

ホルモテロールテープ剤の製剤化研究

著者	角張 育弘
学位名	博士（薬学）
学位授与機関	星薬科大学
学位授与年度	2007年度
学位授与番号	32676乙第165号
URL	http://id.nii.ac.jp/1240/00000307/

ホルモテロールテープ剤の製剤化研究

角張 育弘

目次

論文リスト	1
略号リスト	2
総論の部	3
緒言	3
第 1 章 FF の皮膚透過性に及ぼす各種化合物の効果	5
第 1.1 節 ラット皮膚透過性に及ぼす各種化合物の効果	5
第 1.2 節 ラット皮膚透過性に及ぼす各種化合物の併用効果	8
第 1.3 節 ホルモテロール塩基のラット皮膚透過性	12
第 1.4 節 小括	13
第 2 章 FF の放出性に及ぼす各種粘着剤の効果	14
第 2.1 節 FF の放出性に及ぼす各種粘着剤の効果	14
第 2.2 節 FF の放出性に及ぼす PVP の効果	16
第 2.3 節 MA-2EHA テープ剤からの FF のラット皮膚透過性	18
第 2.4 節 MA-2EHA テープ剤中の FF の安定性	20
第 2.5 節 小括	21
第 3 章 EVA テープ剤の調製と評価	22
第 3.1 節 EVA テープ剤調製時の <i>l</i> -メントール及び NMP の揮散	22
第 3.2 節 EVA テープ剤からの FF のラット皮膚透過性	24
第 3.3 節 EVA テープ剤中の FF の安定性	25
第 3.4 節 EVA テープ剤からの FF のラット経皮吸収性	26
第 3.5 節 モルモットにおける気道収縮とラットの心拍数に及ぼす影響	27

第 3.6 節 小括	29
第 4 章 FF の皮膚透過性と刺激性の改善	31
第 4.1 節 FF の皮膚透過性に及ぼす EC と OD の効果	31
第 4.2 節 FF のラット及びヒト皮膚透過性の比較	34
第 4.3 節 EVA テープ剤の皮膚刺激性	34
第 4.4 節 皮膚刺激性の種差	40
第 4.5 節 小括	41
第 5 章 総括	42
実験の部	44
第 1 章 実験の部	44
第 1.1 節 試薬	44
第 1.2 節 <i>In vitro</i> ラット皮膚透過実験	44
第 2 章 実験の部	46
第 2.1 節 試薬	46
第 2.2 節 FF 含有テープ剤の調製	46
第 2.3 節 放出試験	47
第 3 章 実験の部	48
第 3.1 節 試薬	48
第 3.2 節 EVA テープ剤の調製	48
第 3.3 節 <i>In vitro</i> ラット皮膚透過実験	48
第 3.4 節 <i>In vivo</i> ラット経皮吸収実験	49
第 3.5 節 ヒスタミン誘発気道収縮反応に対する作用	50
第 3.6 節 循環器に及ぼす影響	50

第 4 章 実験の部	52
第 4.1 節 試薬	52
第 4.2 節 EVA テープ剤の調製	52
第 4.3 節 <i>In vitro</i> ラット皮膚透過実験	52
第 4.4 節 <i>In vitro</i> ヒト皮膚透過実験	53
第 4.5 節 皮膚一次刺激性試験	53
謝辞	55
参考文献	56

論文リスト

- 1) Ikuhiro Kakubari, Noriko Nakamura, Toshiyuki Takayasu, Hitoshi Yamauchi, Satoshi Takayama, Kozo Takayama, Effects of solvents on skin permeation of formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 146-149 (2006). [第 1 章]
- 2) Ikuhiro Kakubari, Junji Kawakami, Toshiyuki Takayasu, Hitoshi Yamauchi, Satoshi Takayama, Kozo Takayama, Influence of pressure sensitive adhesive properties on release of formoterol fumarate from matrix patches, *Material Technology*, 24, 339-344 (2006). [第 2 章]
- 3) Ikuhiro Kakubari, Norihiro Shinkai, Junji Kawakami, Akemi Uruno, Toshiyuki Takayasu, Hitoshi Yamauchi, Satoshi Takayama, Kozo Takayama, Formulation and evaluation of ethylene-vinyl acetate copolymer matrix patches containing formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 513-516 (2006). [第 3 章]
- 4) Ikuhiro Kakubari, Hideki Dejima, Kodo Miura, Yasunobu Koga, Hideo Mizu, Toshiyuki Takayasu, Hitoshi Yamauchi, Satoshi Takayama, Kozo Takayama, Determination of formoterol in rat plasma by liquid chromatography- electrospray ionisation mass spectrometry, *Pharmazie*, 62, 94-95 (2007). [第 3 章]
- 5) Ikuhiro Kakubari, Hiroyuki Sasaki, Toshiyuki Takayasu, Hitoshi Yamauchi, Satoshi Takayama, Kozo Takayama, Effects of ethylcellulose and 2-octyldodecanol additives on skin permeation and irritation with ethylene-vinyl acetate copolymer matrix patches containing formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 1717-1722 (2006). [第 4 章]

略号リスト

本論文では、以下の略号を用いた。

DDS	drug delivery system, 薬物送達システム
EC	ethylcellulose, エチルセルロース
EVA	ethylene-vinyl acetate copolymer, エチレン・酢酸ビニル共重合体
FF	formoterol fumarate, フマル酸ホルモテロール
HRG	hydrogenated rosin glycerol ester, 水素添加ロジングリセリンエステル
IPM	isopropyl myristate, ミリスチン酸イソプロピル
MA-2EHA	methyl acrylate and 2-ethylhexyl acrylate copolymer, アクリル酸メチル・アクリル酸 2-エチルヘキシル共重合樹脂エマルション
MMA-BA	methacrylic acid and n-butyl acrylate copolymer, メタアクリル酸・アクリル酸 n-ブチルコポリマー
NMP	N-methyl-2-pyrrolidone, N-メチル-2-ピロリドン
OD	2-octyldodecanol, オクチルドデカノール
PVP	polyvinylpyrrolidone, ポリビニルピロリドン
SIS	styrene-isoprene-styrene block copolymer, スチレン・イソプレン・スチレンブロック共重合体
TTS	transdermal therapeutic system, 経皮吸収治療システム

注) 日局では、有効成分を全身循環血流に送達させて薬効を期待する外用剤を経皮吸収型製剤として分類するが、本研究においては、剤形を具体的に表すためにテープ剤と表記した。

総論の部

緒言

現在、新薬を市場に出すまでには巨額の開発費と相当の時間が必要とされており、創薬活動以外にも、ジェネリック品の開発や新規製剤技術による新製品開発に期待が寄せられている。薬物の体内動態を制御する薬物送達システム（Drug Delivery System, DDS）に代表される製剤技術は、薬物が本来有する効果を引き出し、有害事象を抑えることによって、適正な薬物療法を提供することを目的としている。

DDS の一つである経皮吸収治療システム（Transdermal Therapeutic System, TTS）は、長時間にわたる薬物の持続的な投与が可能であること、腸管や肝臓での初回通過による代謝を回避できることなど、薬物治療上の利点が多く、全身作用を目的とした薬物の投与方法として注目されている¹⁾。1980年代に入ると、その開発が活発化し、現在、スコポラミン²⁾、ニトログリセリン³⁾、硝酸イソソルビド⁴⁾、クロニジン⁵⁾、ツロブテロール⁶⁾等を含む経皮吸収型製剤が開発され、医療の場に供されている。

TTS はその形状からマトリックス型とリザーバー型に分類される。マトリックス型はアクリル系、シリコン系あるいはゴム系粘着剤に溶解剤と粘着付与剤等の各種添加剤を加えた単一の基剤層に、薬物が分散又は溶解されたシンプルな剤形である。

しかし、TTS における薬物吸収の場である皮膚は、本来、外界に対する強靱なバリアとして存在している。そのため、各種物質の皮膚透過性は非常に低く、これら開発された TTS に使われている薬物は、それ自身透過性の高いものが選ばれている。TTS 化により治療上の利点が期待される皮膚透過性の低い一般の薬物においては、薬物の皮膚透過性を向上させる手法を見いだすことが優れた TTS を開発する上で重要な課題となっている。

薬物の皮膚透過性を向上させる経皮吸収促進方法としては、化学的促進剤の使用、物理学的な方法であるイオントフォoresis^{7,8)}やソノフォoresis⁹⁻¹¹⁾などが試みられている。現在、テルペン類^{12,13)}、ピロリドン類^{14,15)}、中鎖不飽和脂

脂肪酸¹⁶⁾、脂肪酸エステル¹⁷⁾などが経皮吸収促進作用を持つ物質として、実用化を目指した検討が行われている。しかし、これらの経皮吸収促進剤の効果は、薬物や基剤の物性によって大きく異なり、その吸収促進機構の解明とともに系統的な経皮吸収促進剤の開発が望まれる。

フマル酸ホルモテロール (FF) は弱塩基性の β_2 受容体刺激薬で、強力かつ持続的な気管支拡張作用を有し^{18,19)}、1日2回の経口剤として市販されている。しかし、気管支喘息の発作は早朝のモーニングディップと呼ばれる呼吸機能低下が引き金となって起きるものと考えられており、作用の持続時間の点からは、まだ十分なテープ剤が開発されているとは言い難い。

そこで本研究では、就寝前に適用して明け方においても有効血中濃度を保ち、モーニングディップを抑制可能な FF テープ剤の開発を目的として、以下の検討を行った。まず、第1章において、種々の化合物が FF の皮膚透過に及ぼす効果を検討した。また、第2章においては種々の粘着剤を用いたテープ剤からの FF の放出性を検討した。第3章においては、粘着剤としてエチレン・酢酸ビニル共重合体 (EVA) を用いたテープ剤の実用化の可能性を評価し、最後に第4章において、皮膚刺激の軽減について検討した。以下、得られた結果について詳述する。

第 1 章 FF の皮膚透過性に及ぼす各種化合物の効果²⁰⁾

皮膚は本来外因性物質の体内への侵入を防御するバリアの機能を有するため注射剤や経口剤といった従来の製剤の吸収部位に比べて薬物の吸収性は乏しく、通常の状態では治療上十分な量の薬物を皮膚から体内へ入れることは困難である。このため、薬物の皮膚透過性を向上させる経皮吸収促進方法として、化学的促進剤の使用、物理学的な方法であるイオントフォoresis^{7,8)}やソノフォoresis⁹⁻¹¹⁾などが試みられているが、皮膚に直接作用し皮膚の構造を可逆的に変化させることで、このバリア機能を減弱させる吸収促進剤の利用が最も簡単で大きな効果が期待できる。現在、テルペン類^{12,13)}、ピロリドン類^{14,15)}、中鎖不飽和脂肪酸¹⁶⁾、脂肪酸エステル¹⁷⁾などが経皮吸収促進作用を持つ化合物として、実用化のための検討が行われている。しかし、これらの吸収促進剤の効果は、薬物や基剤の物性によって大きく異なり、その促進作用機構の解明とともに系統的な経皮吸収促進剤の開発が望まれる。

そこで、FF に対する経皮吸収促進効果の大きい化合物の検索を目的として、FF の皮膚透過に及ぼす種々の化合物の効果をラット皮膚透過実験により評価した。

第 1.1 節 ラット皮膚透過性に及ぼす各種化合物の効果

2-チャンバー拡散セルを用いたラット皮膚透過実験での、各種化合物に溶解した FF のラット皮膚透過性を Table 1 に示す。FF とエタノールの濃度は、各々の溶液で 12.5 µg/ml と 2.5 µl/ml になるように調整した。

FF の皮膚透過はテルペン、脂肪酸エステル、高級アルコール類で著しく促進されたが、低級アルコール類、ピロリドン、アミンでは促進されなかった。テルペン類では、特にシネオール、メントン、酢酸リナリルで促進され、8 時間後の FF の皮膚透過量は、それぞれ、34.5, 28.6, 23.5 µg/cm² で、生理食塩液と比較して 100 倍以上高い値を示した。

脂肪酸エステルでは、リノール酸エチル、セバシン酸ジエチル、ミリスチン

酸イソプロピル (IPM) で高い皮膚透過性を示し、その値はそれぞれ 8.8, 8.1, 7.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。1-オクタノールや 1-デカノールは、リノール酸エチルと同様の結果を示した。経皮吸収促進剤として報告されている N-メチル-2-ピロリドン (NMP) ²¹⁾ による促進効果は認められなかった。

疎水性薬物であるインドメタシンやケトプロフェンの皮膚透過性は *d*-リモネンにより著しく促進され ^{12,13)}、ジクロフェナクナトリウムの透過性も *l*-メントールや *dl*-メントンの存在により促進されることが知られている ²²⁾。このように、薬物の種類によりテルペン類の皮膚透過促進効果は異なり、個々の薬物の物理化学的性質に密接な関係がある。シネオールや IPM は角質層の細胞間隙に存在する脂質に作用して、脂質の粘性を減少させ流動性を高める作用があるとされていることから ²³⁾、FF は細胞間隙を透過することが示唆された。

Table 1. Effects of various chemicals on permeation of FF through rat abdominal skin

Chemical	Cumulative amount of permeated FF ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)				
	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	24 hr
Cineole	8.4 \pm 4.9	21.8 \pm 8.9	30.1 \pm 9.4	34.5 \pm 8.2	48.2 \pm 3.8
Linalyl acetate	0.6 \pm 0.4	7.0 \pm 3.6	15.4 \pm 5.2	23.5 \pm 5.7	45.3 \pm 4.4
Menthone	2.6 \pm 1.1	13.9 \pm 3.2	22.6 \pm 2.6	28.6 \pm 2.0	36.7 \pm 2.7
α -Terpinene	5.6 \pm 1.4	11.8 \pm 2.5	15.8 \pm 3.0	18.3 \pm 2.6	26.8 \pm 1.5
Linalool	0.5 \pm 0.3	3.1 \pm 0.5	6.2 \pm 0.2	9.4 \pm 0.4	23.1 \pm 1.5
Terpinolene	2.1 \pm 1.0	6.0 \pm 0.4	7.9 \pm 1.5	8.7 \pm 1.8	13.7 \pm 2.8
<i>d</i> -Limonene	1.4 \pm 0.5	3.1 \pm 0.8	4.8 \pm 1.0	5.5 \pm 1.1	12.1 \pm 1.5
α -Terpineol	0.1 \pm 0.1	0.4 \pm 0.3	1.8 \pm 0.1	2.4 \pm 0.4	9.6 \pm 1.6
<i>d</i> -Menthol*	0.2 \pm 0.1	0.9 \pm 0.6	1.9 \pm 0.2	2.7 \pm 0.0	8.5 \pm 1.5
Diethyl sebacate	0.3 \pm 0.4	1.9 \pm 2.8	4.7 \pm 6.1	8.1 \pm 9.3	22.4 \pm 12.7
Ethyl linoleate	0.5 \pm 0.2	2.3 \pm 1.6	6.0 \pm 2.6	8.8 \pm 3.5	17.1 \pm 4.8
Isopropyl myristate	0.4 \pm 0.1	2.5 \pm 1.4	5.5 \pm 1.9	7.8 \pm 2.4	16.4 \pm 3.2
Diisopropyl adipate	0.1 \pm 0.1	0.3 \pm 0.4	0.9 \pm 1.3	1.7 \pm 2.4	12.3 \pm 11.5
Ethyl oleate	0.5 \pm 0.2	1.6 \pm 0.8	3.0 \pm 0.6	4.8 \pm 1.2	11.8 \pm 3.0
Diisopropyl sebacate	0.0 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2	2.3 \pm 0.3	10.5 \pm 0.6
Butyl myristate	0.8 \pm 0.3	2.6 \pm 1.2	3.9 \pm 1.9	4.6 \pm 2.1	10.2 \pm 2.7
Isopropyl palmitate	0.5 \pm 0.2	1.2 \pm 0.9	2.6 \pm 0.5	3.2 \pm 0.5	6.3 \pm 0.8
Hexadecyl isostearate	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2
Decyl oleate	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.2	0.5 \pm 0.3	0.7 \pm 0.5	2.4 \pm 1.5
Oleyl oleate	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.4 \pm 0.1
Cetyl isooctanate	0.1 \pm 0.0	0.3 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2	1.2 \pm 0.4	3.6 \pm 0.3
Glyceryl triisooctanate	0.1 \pm 0.0	0.4 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4	3.6 \pm 0.7
Diethyl phthalate	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.2	0.8 \pm 0.3
Ethanol (50%)	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	-
Isopropanol	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	-
n-Butyl alcohol	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	3.3 \pm 0.7
1-Octanol	0.8 \pm 0.5	2.6 \pm 0.8	4.3 \pm 0.9	5.9 \pm 1.2	15.8 \pm 2.7
1-Decanol	0.7 \pm 0.3	2.8 \pm 0.5	5.4 \pm 0.8	7.5 \pm 0.9	17.8 \pm 2.9
1-Dodecanol	0.1 \pm 0.0	0.4 \pm 0.2	1.2 \pm 0.5	2.3 \pm 0.8	10.6 \pm 2.8
Oleyl alcohol	0.1 \pm 0.0	0.3 \pm 0.2	0.9 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	4.9 \pm 0.3
Octyldodecanol	0.1 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.5 \pm 0.2	0.6 \pm 0.3	1.9 \pm 0.7
Propylene glycol	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	-
N-Methyl-2-pyrrolidone	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	2.4 \pm 0.4
N,N-Diethyl-m-toluamide	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Formamide	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Oleic acid	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1	1.0 \pm 0.4
Liquid paraffin	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1
Saline	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.2	0.3 \pm 0.2	1.2 \pm 0.7

Data are mean \pm S.D. values from three determinations.

*In general, *L*-menthol is widely employed as an enhancer, however, because of its relatively high melting point, *d*-form was used in this study.

第 1.2 節 ラット皮膚透過性に及ぼす各種化合物の併用効果

2-チャンバー拡散セルを用いた単一溶媒系での実験では、テルペン類のシネオール及び脂肪酸エステル類の IPM が FF の皮膚透過を促進したが、これらの化合物に対する FF の溶解度は非常に低い。テープ剤から皮膚への分配を高めるためには、テープ剤中に FF を高濃度に溶解させる必要があることから、FF に対する溶解度の高い NMP (194.6 mg/ml 以上, 37 °C) を溶解剤として使用した。L-メントールはシネオールや IPM と同様に、角質層の細胞間隙に存在する脂質に作用して、脂質の粘性を減少させ流動性を高める作用があることが報告されている²³⁾。しかし、L-メントールは常温で固体のため単一溶媒系では評価することができなかつたため、L-メントールと NMP の混合溶媒系が FF の皮膚透過に及ぼす影響を評価した。

FF のラット皮膚透過性に及ぼす混合溶媒の影響は、テープ剤という剤形を考慮し、フランツ型拡散セルを用いて、シネオール/NMP, L-メントール/NMP 及び IPM/NMP 混合溶媒に FF を高濃度で溶解し評価した。FF の濃度は、400 µg/ml になるように調整した。

Fig.1 及び 2 に NMP 溶液中のシネオール又は L-メントールの配合割合が FF の皮膚透過性に及ぼす影響を示す。NMP 単独に比べ、シネオールの添加により、明らかに皮膚透過性は高くなり、L-メントールの添加においても透過性は高くなった。シネオール/NMP 混合溶媒は、シネオール単独の場合と比較するとラグタイムが減少し皮膚透過性が向上した。L-メントール/NMP 混合溶媒は、シネオール/NMP 混合溶媒より促進効果が高く、特に L-メントール/NMP の比率が 60/40 (w/w) のとき、FF の皮膚透過性は最大となることが明らかとなった。

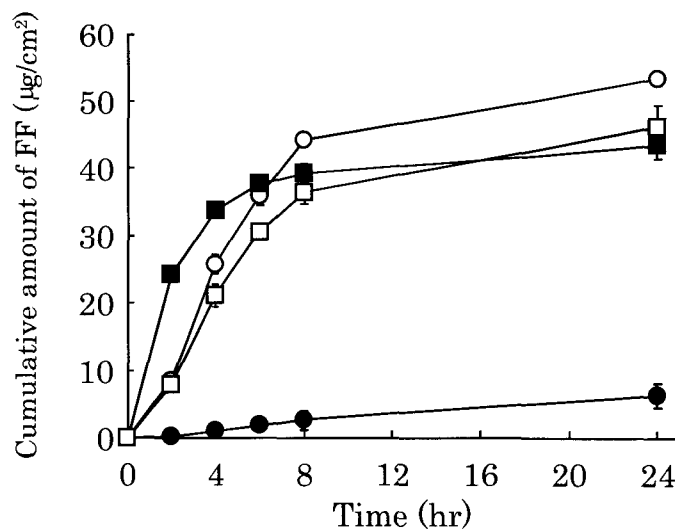


Fig.1. Effects of cineole content on skin permeation of FF with the cineole/NMP mixed solvent system
Cineole content in NMP (%): ●, 0%; ○, 50%; ■, 90%; □, 100%. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

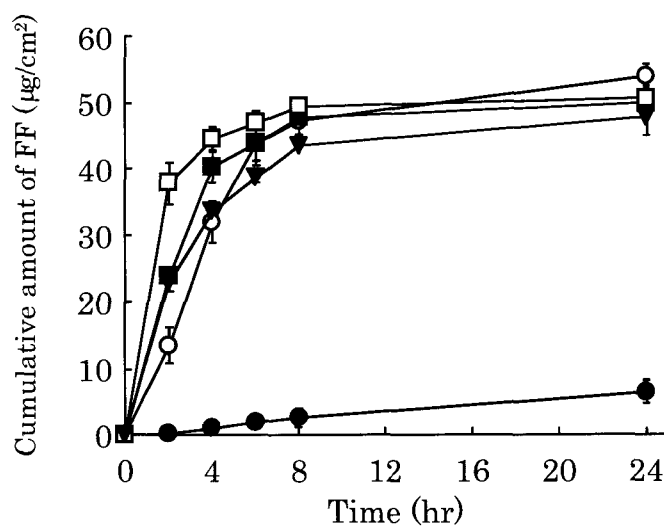


Fig.2. Effects of *l*-menthol content on skin permeation of FF with the *l*-menthol/NMP mixed solvent system
l-Menthol content in NMP (%): ●, 0%; ○, 20%; ■, 40%; □, 60%; ▼, 80%. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

FF の皮膚透過性は、高濃度でも IPM 又は NMP 単独ではわずかに促進されるに過ぎなかった (Fig.3). しかし、各種促進剤の効果は薬物の親油性に大いに関連があり²⁴⁾、IPM/NMP^{25,26)}や *l*-メントール/エタノール²⁷⁾のような混合溶媒の吸収促進効果がすでに報告されているように、この 2 成分を混合することにより、皮膚透過性は著しく向上し、IPM/NMP の比率が 60/40 (w/w) のとき、FF の皮膚透過性は最大となることが明らかとなった。

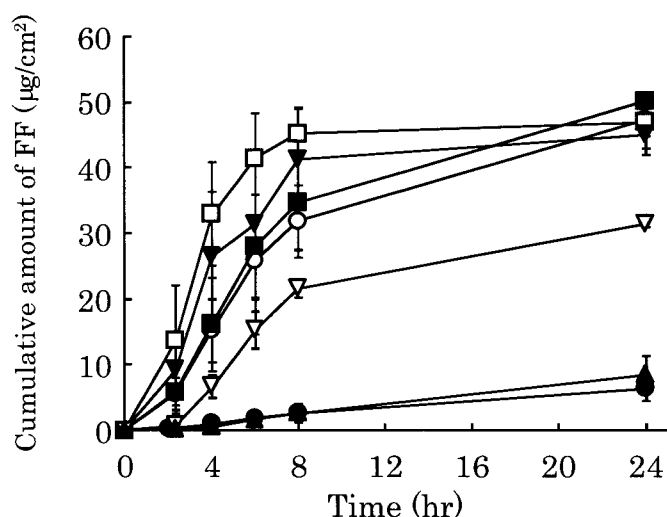


Fig.3. Effects of IPM content on skin permeation of FF with the IPM/NMP mixed solvent system
 IPM content in NMP (%): ●, 0%; ○, 30%; ■, 40%; □, 60%; ▼, 70%; ▽, 90%; ▲, 100%. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

Table 2 に IPM, NMP を皮膚に前処理したときの FF の皮膚透過性を示す。前処理として、実験の 2 時間前に溶液を皮膚に塗布し、使用時に十分な量の蒸留水で洗い流した。IPM による前処理は、生理食塩液による前処理に比べて、明らかに FF の皮膚透過性を増加させ、IPM/NMP (60:40) の時と同様な結果を示した。また、FF の皮膚透過性は NMP による前処理によっても、かなり増加することが明らかとなった。

薬物の皮膚透過において、エタノール、プロピレングリコール、NMP のような溶媒は、薬物の溶解だけでなく、皮膚のバリア能を低下させる機能も重要な役割の一つと考えられている²⁸⁾。また、溶媒による皮膚の前処理は、溶媒が角質層に直接作用し、角質層脂質の流動性を増大させることにより、薬物の拡散に対する抵抗を下げている。Table 2 に示す結果から、IPM と NMP が相乗効果を持つことが明らかとなった。

いろいろな化合物の促進効果が報告されているが、それらの多くは皮膚刺激を引き起こす。シネオールや *l*-メントールのようなテルペン類及び脂肪酸や IPM のようなエステル類は、比較的安全な化合物として知られている。Lashmar ら²⁹⁾は NMP の皮膚刺激性についてヌードマウスの皮膚を使用し、組織病理学的な研究をしており、ヘアレスモルモットの肉眼観察においても紅斑や浮腫は観察されていない。シネオール/NMP, *l*-メントール/NMP と IPM/NMP 混合溶媒は安全であると考えられるが、将来的には、ヒトで評価していく必要があると考えられる。

Table 2. Effects of pretreatment of skin with solvents on subsequent absorption of FF

Pretreatment solvent	Solvent	Cumulative amount of permeated FF ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)				
		2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	24 hr
Saline	NMP	0.2 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1	0.9 \pm 0.2	7.8 \pm 1.6	15.6 \pm 2.1
Saline	IPM	0.6 \pm 0.1	2.6 \pm 1.4	3.0 \pm 1.5	6.1 \pm 0.6	7.5 \pm 0.5
IPM	NMP	4.5 \pm 2.0	12.7 \pm 4.9	25.4 \pm 4.0	52.1 \pm 1.6	52.8 \pm 1.3
NMP	IPM	4.2 \pm 1.0	9.4 \pm 2.7	13.4 \pm 2.8	22.8 \pm 5.3	24.5 \pm 4.7

Data are mean \pm S.D. for 3-6 determinations.

第 1.3 節 ホルモテロール塩基のラット皮膚透過性

l-メントール/NMP と IPM/NMP 混合溶媒を用い、ホルモテロール塩基と FF の皮膚透過性を比較した. Fig.4 に皮膚透過実験の結果を示す. ホルモテロール塩基と FF の累積透過量はほぼ同程度であったことから、混合溶媒中で FF はホルモテロール塩基の形で存在していると考えられる.

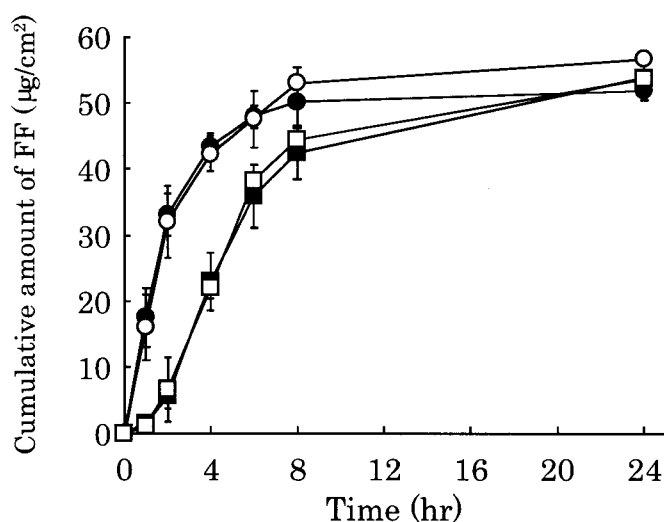


Fig.4. Comparison of FF and the free base for skin permeation with mixed solvent systems

●, FF in *l*-menthol/NMP (60:40); ○, free base in *l*-menthol/NMP (60:40); ■, FF in IPM/NMP (60:40); □, free base in IPM/NMP (60:40). Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

第 1.4 節 小括

単一溶媒系では，FF の皮膚透過はテルペン，脂肪酸エステル，高級アルコール類で著しく促進されたが，低級アルコール類，ピロリドン，アミンでは促進されなかった．テルペン類では，特にシネオール，メントン，酢酸リナリルで，また，脂肪酸エステルでは，リノール酸エチル，セバシン酸ジエチル，IPM で高い促進効果が認められた．経皮吸収促進剤として報告されている NMP による促進効果は認められなかった．

高濃度での混合溶媒系では，FF の皮膚透過性は，シネオール/NMP，*l*-メントール/NMP と IPM/NMP 混合溶媒によって著しく促進され，*l*-メントール/NMP の比率が 60/40 (w/w) のとき，最大の皮膚透過性が得られた．*l*-メントール/NMP，IPM/NMP 混合溶媒は FF の皮膚透過性を向上させる効果的な促進剤であることが明らかとなった．また，混合溶媒中で FF はホルモテロール塩基の形で存在していると考えられる．

これらの結果より，特定の溶媒を特定の比率で混合することで，薬物の皮膚透過を著しく高めることができると考えられる．

第 2 章 FF の放出性に及ぼす各種粘着剤の効果³⁰⁾

粘着テープは通常の接着剤とは異なり、貼付すると直ちに実用に耐える接着力を発揮することから、電気・絶縁、表面保護、医療から一般家庭に至る広い分野で使用されている。粘着剤はエラストマー、粘着付与剤、軟化剤、老化防止剤、充填剤等からなり、被着体や使用条件等の用途・用法に応じて、被着体に密着していくための流動性と剥離に対する凝集性のバランスをとりながら設計される。マトリックス型 TTS は支持体、粘着剤層及び剥離ライナーからなる粘着テープの一種であるが、その粘着剤層は皮膚への粘着機能に加え、薬物貯蔵層としての機能を合わせもつ必要がある。

マトリックス型 TTS を皮膚に適用すると、システム中の薬物は皮膚を通して全身循環系へと移行する。最初に、薬物は粘着剤層を拡散により移動し、皮膚表皮層中へ分配により移動する。その後、表皮層中を拡散し、末梢血管系へと分配される。

薬物の皮膚透過性は、薬物の溶解性と拡散係数に支配される^{31,32)}ことから、吸収促進剤や溶解剤だけでなく、基剤からの薬物の放出を高めることも重要である。しかし、粘着剤が主薬と相互作用を持つと放出が抑制されることが多い。

そこで、FF に対する相互作用の少ない粘着剤の検索を目的として、FF の放出性に及ぼす種々の粘着剤の効果を放出試験により評価した。

第 2.1 節 FF の放出性に及ぼす各種粘着剤の効果

Table 3 に各種粘着剤を用いて調製したテープ剤の組成を示す。また、Fig.5 に各種テープ剤からの FF の放出プロファイルを示す。

粘着剤としてスチレン・イソプレン・スチレンブロック共重合体 (SIS)、メタアクリル酸・アクリル酸 n-ブチルコポリマー (MMA-BA) 又はアクリル酸メチル・アクリル酸 2-エチルヘキシル共重合樹脂エマルジョン (MA-2EHA) を用いて調製した SIS テープ剤、MMA-BA テープ剤又は MA-2EHA テープ剤では、FF は、最初に急速に放出され、その後、放出速度は徐々に減少し、8 時

間後の放出率はそれぞれ、50.5、37.1 及び 16.3 %であった。薬物の 30 %が放出されるまでの SIS テープ剤及び MMA-BA テープ剤からの放出率は、時間の平方根に対して、線形性を示した。MA-2EHA テープ剤からの FF の放出は MMA-BA より非常に低く、初期においては界面活性剤の影響により放出されたものの、その後は FF と MA-2EHA の相互作用のため放出が抑制されたと考えられる。

シリコーン系粘着剤を用いて調製したシリコーンテープ剤では、FF の放出はほとんど見られなかった。SIS とシリコーンは同じゴム系の粘着剤であるが、SIS テープ剤では、粘着付与剤として脂環族飽和炭化水素樹脂が添加されているために、FF が放出されたものと考えられる。

EVA を用いて調製した EVA テープ剤では、FF は 2 時間まで急速に放出され、その後は放出されなくなった。EVA は放出制御膜としての機能を持ち、酢酸ビニル含有率の違いにより異なる膜透過性を示すことから^{33,34)}、SIS やシリコーンと異なり、初期においては、FF が放出されたと考えられる。このように、テープ剤からの FF の放出は、粘着剤や添加物の性状に依存することが示された。

Table 3. Compositions of the tested adhesive matrix patches

Ingredient	Quantity (mg/cm ²)				
	MAA-BA	MA-2EHA	Silicone	SIS	EVA
FF	0.0635	0.0635	0.0635	0.0635	0.0635
Adhesive polymer	4.916~5.121	4.916~5.121	5.121	2.0485	5.121
PVP K-90	0~0.205	0~0.205	-	-	-
Additives	-	-	-	2.970	-
Anti-oxidants	-	-	-	0.1025	-

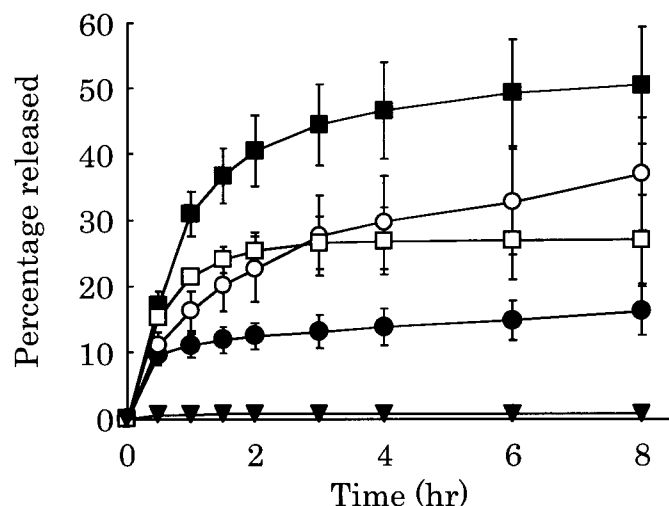


Fig.5. Effects of several pressure sensitive adhesives on percentage release of FF from adhesive matrix patches
 ●, MA-2EHA; ○, MMA-BA; ■, SIS; □, EVA; ▼, Silicone.
 Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

第 2.2 節 FF の放出性に及ぼす PVP の効果

Fig.6 及び 7 に MAA-BA と MA-2EHA にポリビニルピロリドン (PVP) を 0~4 % 添加したテープ剤からの FF の放出プロファイルを示す. MAA-BA テープ剤からの FF の 8 時間までの放出量は, PVP の添加量によらず約 40 % で, 放出性に差は認められなかった. 一方, MA-2EHA テープ剤からの FF の 8 時間までの放出量は, PVP の添加量が 0.6 % までは濃度依存的に増加し, 0.6 % 以上で約 90 % が放出された.

MA-2EHA テープ剤中の添加剤と薬物の相互作用を FTIR 及び顕微鏡観察により確認したが, PVP を含有する MA-2EHA テープ剤の FTIR スペクトルでは吸収パターンに差は認められず, FF の結晶も確認されなかった.

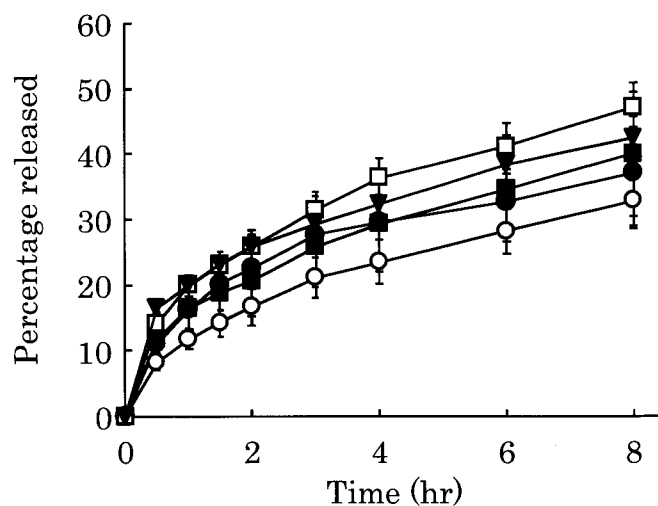


Fig.6. Effects of PVP on percentage release of FF from MMA-BA matrix patches
 ●, 0%; ○, 1%; ■, 2%; □, 3%; ▼, 4%. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

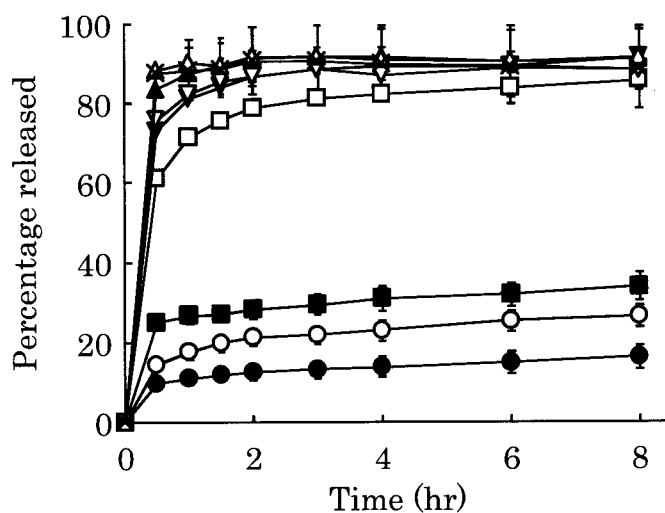


Fig.7. Effects of PVP on percentage release of FF from MA-2EHA matrix patches
 ●, 0%; ○, 0.2%; ■, 0.4%; □, 0.6%; ▼, 0.8%; ▽, 1.0%; ▲, 2.0%; △, 3.0%; ×, 4.0%. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

ポリメタクリル酸やポリアクリル酸のようなポリカルボン酸は、PVP とポリマー間で複合体を形成することが知られているが³⁵⁻³⁸⁾、MA-2EHA と PVP の相互作用は認められなかった。PVP の添加量が増えることにより、溶媒の表面張力が減少し、薬物の濡れを改善して溶解速度を増加させたと考えられる^{39,40)}。PVP を含有する MA-2EHA テープ剤中の FF は、PVP が 0.6 % までは影響を受けなかったが、0.6 % 以上になると親水性が高くなり、初期バースト現象が現れるようになったと考えられる。

第 2.3 節 MA-2EHA テープ剤からの FF のラット皮膚透過性

放出試験でのバースト現象は、テープ剤の表面に薬物が移動して高濃度になったことにより、皮膚への分配が最大になったものと考えられることから、皮膚透過性についても検討を加えた。I-メントール/NMP と IPM/NMP 混合溶媒が FF のラット皮膚透過性を促進させることから、I-メントール/NMP 又は IPM/NMP を添加した PVP を含有する MA-2EHA テープ剤を調製し、ラット皮膚透過性を評価した。調製したテープ剤の組成を Table 4 に示す。

I-メントール/NMP 又は IPM/NMP を添加した PVP を含有する MA-2EHA テープ剤からの FF の累積皮膚透過量は、24 時間にわたり直線的に増加し (Fig.8)、皮膚透過速度はそれぞれ、0.57, 0.09 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ で、I-メントール/NMP を配合したテープ剤における皮膚透過性が優れていた。I-メントールは、皮膚刺激性を有するため、市販のゲルやパップ剤などの含水製剤では 1 % 未満で使用されているが、非水系の消炎鎮痛テープ剤では 5 % 以上配合されている。I-メントールを 3 % 含有する MA-2EHA テープ剤はほとんど水を含まないことから、皮膚刺激の少ない皮膚透過性の優れた製剤として有用であると考えられる。

Table 4. Compositions of the tested MA-2EHA matrix patches

Ingredient	Quantity (mg/cm ²)	
	<i>l</i> -Menthol/NMP	IPM/NMP
FF	0.066	0.064
<i>l</i> -Menthol	0.119	-
IPM	-	1.742
NMP	0.013	0.015
MA-2EHA	3.442	3.556
PVP K-90	0.084	0.081
Water	0.019	0.020

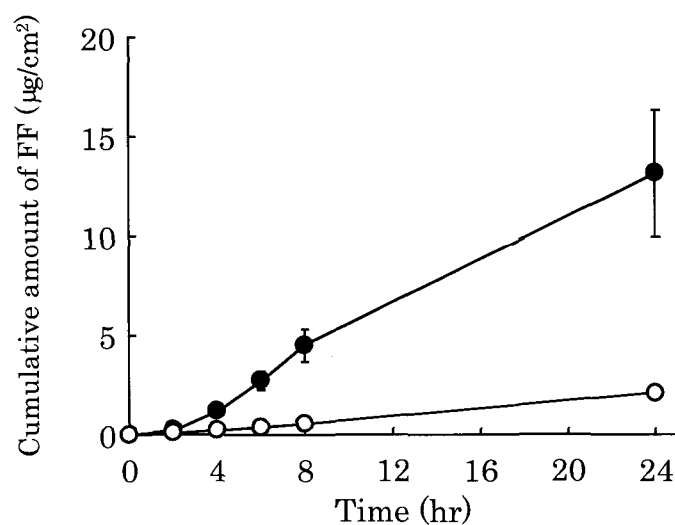


Fig.8. Effect of enhancers on permeation of FF from MA-2EHA matrix patches

●, *l*-menthol; ○, IPM. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

第 2.4 節 MA-2EHA テープ剤中の FF の安定性

Table 5 に異なる乾燥温度で調製した MA-2EHA テープ剤中の FF, *l*-メントール及び NMP の含量を示す. また, Table 6 にアルミニウム箔を主体とした複合ラミネート袋による包装形態で 40°C で保存した MA-2EHA テープ剤中の FF の残存量を示す.

乾燥温度を高くすることによりテープ剤中の水分量は低下するが, 130°C で 15 分間乾燥しても, 基剤成分の約 0.2 %に相当する水分が残存する. しかし, *l*-メントールや NMP は 90°C, 15 分間以上の乾燥でほとんど揮散してしまうことから, 水分を完全に蒸発させ, 一定量の *l*-メントールや NMP を含有する MA-2EHA テープ剤の調製は難しいと考えられる.

FF の含量は 70°C, 15 分の乾燥条件で調製したとき, 理論値 (1.27mg/20cm²) とほぼ等しい 1.31mg/20cm²であったが, 130°C, 15 分の乾燥条件では理論値に対して約 26 %の含量低下が認められ, 乾燥温度に対して直線的に含量が低下した. 70°C, 15 分の乾燥条件で調製した MA-2EHA テープ剤中の FF は, 40°C, 8 週間で開始時に対して約 22 %の含量低下が認められたが, 130°C, 15 分の乾燥条件で調製した MA-2EHA テープ剤中の FF は約 4 %の含量低下に留まることが明らかとなった.

Table 5. FF, *l*-menthol and NMP contents of MA-2EHA matrix patches at several dry temperatures

Ingredient	Quantity(mg/cm ²)			
	70 °C	90 °C	110 °C	130 °C
FF	0.0654	0.0573	0.0547	0.0473
<i>l</i> -Menthol	0.814	0.027	-	0.019
NMP	0.104	0.055	-	N.D.

Table 6. Assay results for FF release from MA-2EHA matrix patches

Dry temperature	Percentage retained (%) ^a		
	2 W	4 W	8 W
70 °C	94.4±3.0	85.7±5.8	77.8±1.4
90 °C	94.3±0.7	75.6±8.3	87.8±0.9
110 °C	98.9±1.2	93.3±0.7	91.3±2.4
130 °C	101.1±2.8	92.7±10.2	96.1±0.7

Data are mean ± S.D. values from determinations.

a) Based on 100% at week zero

第 2.5 節 小括

SIS, MMA-BA 及び MA-2EHA テープ剤では, FF は初期に急速に放出され, その後, 放出速度は徐々に減少した. 薬物の 30 %が放出されるまでの SIS と MMA-BA テープ剤からの放出率は, 時間の平方根に対して, 線形性を示した. シリコーンテープ剤からは FF がほとんど放出されず, EVA テープ剤からは 2 時間まで急速に放出され, その後は放出されなくなった. このように, テープ剤からの FF の放出は, 粘着剤や添加物の性状に依存して変化すると考えられる.

PVP を含有する MA-2EHA テープ剤中の FF は, PVP 配合量が 0.6 %までは影響を受けなかったが, 0.6 %以上になると親水性が高くなり, 初期バースト現象が現れるようになった. *L*-メントール/NMP 又は IPM/NMP を添加した PVP を含有する MA-2EHA テープ剤からの FF の累積皮膚透過量は, 24 時間にわたり直線的に増加し, 特に, *L*-メントール/NMP を配合したテープ剤での皮膚透過性が優れていた. また, FF の安定性は, NMP 及び水分量に関連すると考えられる.

第3章 EVA テープ剤の調製と評価^{41,42)}

EVA はエチレンと酢酸ビニルを共重合させた熱可塑性樹脂で、酢酸ビニルの含有率により性質は異なり、酢酸ビニル含量が少ないと低密度ポリエチレンに近い性質を、酢酸ビニル含量が多くなるほどゴムに近い性質を示す。そして、リザーバー型 TTS の放出制御膜^{33,34)}やホットメルト系接着剤などの用途に使用されている。

テープ剤の粘着剤としてアクリル系、シリコン系やゴム系などの高分子物質を使用した多くの研究がなされ^{31,32)}、製品として開発されているが、粘着剤として EVA を用いた研究はほとんど行われていない^{43,44)}。また、前章において調製した *l*-メントール/NMP を添加した PVP を含有する MA-2EHA テープ剤は、FF の皮膚透過性には優れるが、エマルション型粘着剤を使用しているために、テープ剤中の水分を完全に蒸発させることができず、FF の安定性を保持することが困難である。

そこで、*l*-メントールと NMP を含有する、EVA を主体としたテープ剤を調製し、それらにおける FF の皮膚透過性と安定性を評価した。さらに、実験動物を用い、有効性と安全性について評価した。

第3.1節 EVA テープ剤調製時の *l*-メントール及び NMP の揮散

吸収促進剤として *l*-メントール、溶解剤として NMP、粘着付与剤として水素添加ロジングリセリンエステル (HRG) を含有する 28 種類の EVA テープ剤を調製した。これらは、粘着剤混合物としての配合比率が異なるために、テープ剤としては、厚みや重量がわずかに異なることになるが、単位面積当たりの FF 含量がすべて等しくなるように調製した。

乾燥前の粘着剤混合物中の *l*-メントール、NMP の配合量と調製されたテープ剤中の含有量の関係を Fig.9 及び 10 に示す。*l*-メントール、NMP の増減に対しては、トルエンの配合量で補正し、粘着剤混合物の総量が等しくなるよう

にした。

粘着剤混合物中の **NMP** とトルエンの比率が異なる場合でも、粘着剤混合物中の *l*-メントールは 2.4～14.4 %の範囲で直線性を示し、そのときの相関係数は 0.992 であった。しかし、粘着剤混合物中の *l*-メントールとトルエンで比率が異なる場合の粘着剤混合物中の **NMP** 配合量とテープ剤中の **NMP** 含有量の相関係数は 0.777 であった。これより *l*-メントールの昇華は **NMP** と溶剤であるトルエンの配合量には影響を受けないが、**NMP** は粘着剤混合物の構成要素であるトルエンの影響を受けることが明らかとなった。

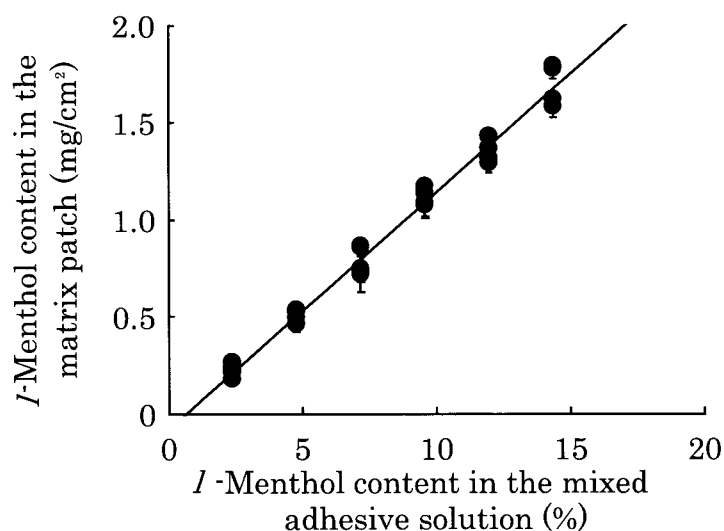


Fig. 9. Relationship between *l*-menthol content in the mixed adhesive solution and the matrix patch
Data are mean \pm S.D. values from four determinations.

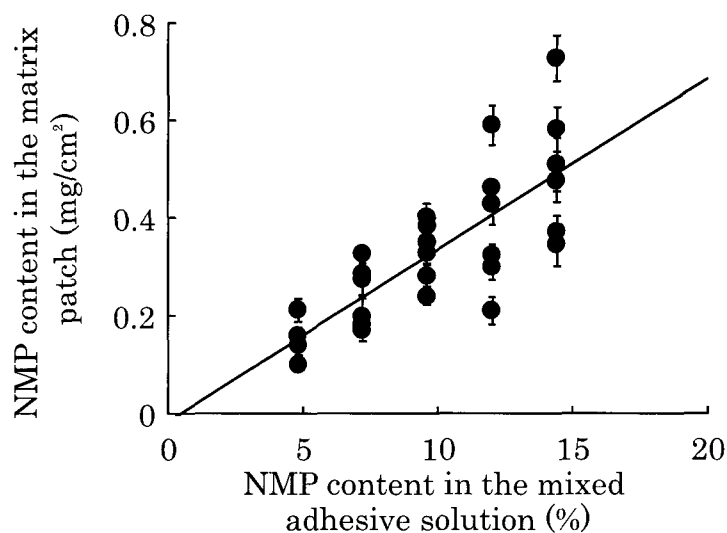


Fig. 10. Relationship between NMP content in the mixed adhesive solution and the matrix patch
Data are mean \pm S.D. values from four determinations.

第 3.2 節 EVA テープ剤からの FF のラット皮膚透過性

溶解剤の NMP, 吸収促進剤の *L*-メントールの濃度を変えた EVA テープ剤からの FF のラット皮膚透過性について検討した結果を Fig.11 に示す.

L-メントールと NMP 含量の増加とともに, FF の皮膚透過性は増大した. 薬物の皮膚透過性は FF が懸濁した状態で検討されたため, 薬物が基剤中で飽和状態となり, 薬物の皮膚透過性は最大になる. *L*-メントールと NMP 含量が増加することにより, 粘着剤層中に溶解する FF の量が増え, さらに, *L*-メントールと NMP が角質層のバリア機能を低下させることによって皮膚透過性が向上したと考えられる^{23,28)}.

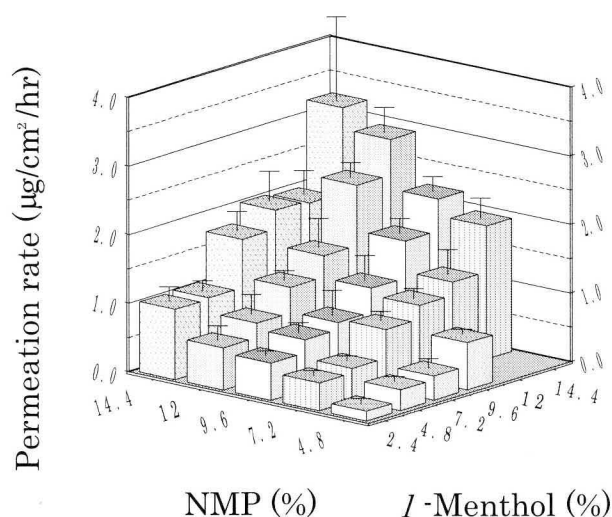


Fig. 11. Skin permeation of FF with various matrix patches containing *l*-menthol and NMP

The concentration shows *l*-menthol and NMP contents in the mixed adhesive solution. Data are mean \pm S.D. values from four determinations.

第 3.3 節 EVA テープ剤中の FF の安定性

40°C-75%RH で 6 ヶ月間アルミニウム箔を主体とした複合ラミネート袋による包装形態で保存した EVA テープ剤中の FF の分解率を Fig.12 に示す. FF は粘着剤混合物中の NMP 含量が 4.8~7.2 %の範囲で安定であったが, EVA テープ剤では NMP の含有量が高くなるにつれ, 安定性が低下した. NMP は FF に対して, 溶解剤としては優れているが, 高濃度ではプロトン受容体として働くと考えられる. 粘着剤混合物中の *l*-メントールと NMP の濃度が高い場合, テープ剤の調製時に NMP の濃度が揮発により *l*-メントールより低くなるため, NMP の影響が抑えられ FF が安定化されたと考えられる. 特に, *l*-メントールが FF の安定性に対して優れた効果を示していることから, *l*-メントールは単に吸収促進剤としてのみならず, FF の安定化剤としても機能することが示唆された. *l*-メントールやメチルドパあるいはエピネフリンのようにケト

ンまたはキノン構造を持つ物質は酸化されやすく^{45,46)}, NMP のような双極性非プロトン溶媒はプロトン受容体として働くことから, FF と *l*-メントールの酸化反応を防止すると考えられる. 本条件下では, NMP が FF からでなく *l*-メントールからプロトンを受け取ることにより, FF が安定化したと考えられる.

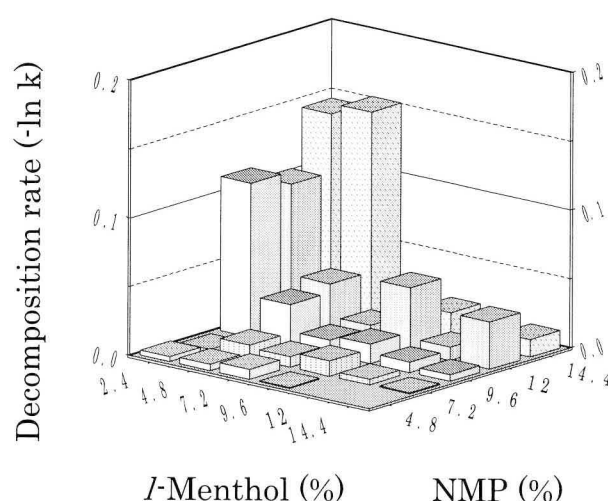


Fig. 12. Rate of decomposition of FF with various matrix patches containing *l*-menthol and NMP
The concentration shows *l*-menthol and NMP contents in the mixed adhesive solution.

第 3.4 節 EVA テープ剤からの FF のラット経皮吸収性

皮膚透過性及び安定性試験結果に基づき, 皮膚透過性及び安定性の優れた粘着剤混合物として, *l*-メントール及び NMP 含量が 12.0 % のテープ剤を選択し, このテープ剤からの FF のラット経皮吸収性を検討した.

FF 250 μ g を経皮, 経口及び静脈内投与後の未変化体の血漿中薬物濃度の推移を Fig.13 に示す. EVA テープ剤として経皮投与したときの C_{max} , T_{max} ,

AUC₍₀₋₂₄₎は、それぞれ 1.93 ng/ml, 4 時間, 25.6 ng·hr/ml で、経口投与ではそれぞれ 7.01 ng/ml, 1 時間, 43.9 ng·hr/ml であった。静脈内投与後の AUC₍₀₋₂₄₎より求めた生物学的利用率は経皮 15.2 %, 経口 26.0 %であった。経皮投与により C_{max} は約 1/4 に減少し、急激な血中濃度の増大による有害事象の発現を減少し得る可能性が示唆された。

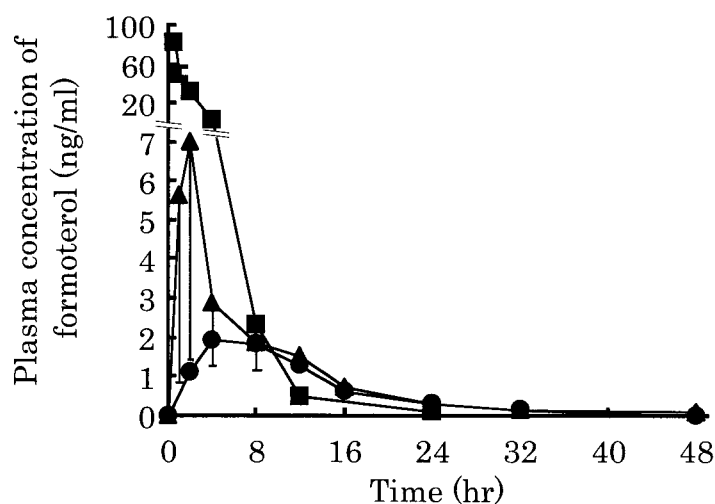


Fig. 13. Plasma concentrations of FF after percutaneous application and intravenous administration to rats
 ●, percutaneous; ▲, oral; ■, intravenous. Each point represents the mean \pm S.E. for five rats.

第 3.5 節 モルモットにおける気道収縮とラットの心拍数に及ぼす影響

モルモットにおけるヒスタミン (3 μ g/kg) 誘発気道収縮に対する EVA テープ剤の効果を Fig.14 に示す。EVA テープ剤は、400 μ g/モルモットの用量から用量依存的にヒスタミン誘発気道収縮反応を抑制し、1000 μ g/モルモットの投与量において、少なくとも投与後 180 分から 480 分まで持続した抑制効果を示した。100 μ g/kg 経口投与では、投与後 15 分から 360 分まで有意に抑制した。

EVA テープ剤及びホルモテロール経口投与の最大抑制値は、それぞれ 84.7 % (投与後 420 分) 及び 92.4 % (投与後 120 分) であった。

EVA テープ剤のラット心拍数に対する影響を Fig.15 に示す。300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量のホルモテロールを経口投与すると、ラット心拍数を投与後 30 分で有意に増加させ、その後も増加する傾向を示した。500 μg /ラット用量の EVA テープ剤の経皮投与はラット心拍数に影響を及ぼさなかったが、1000 μg /ラットの用量を経皮投与すると、ラット心拍数を投与後 120 分に有意に増加させた。

EVA テープ剤による FF の経皮投与は、心血管系に影響を及ぼすことなく、長時間気管支拡張作用を示したことから、低用量で長時間にわたり喘息をコントロール可能なテープ剤であることが示唆された。

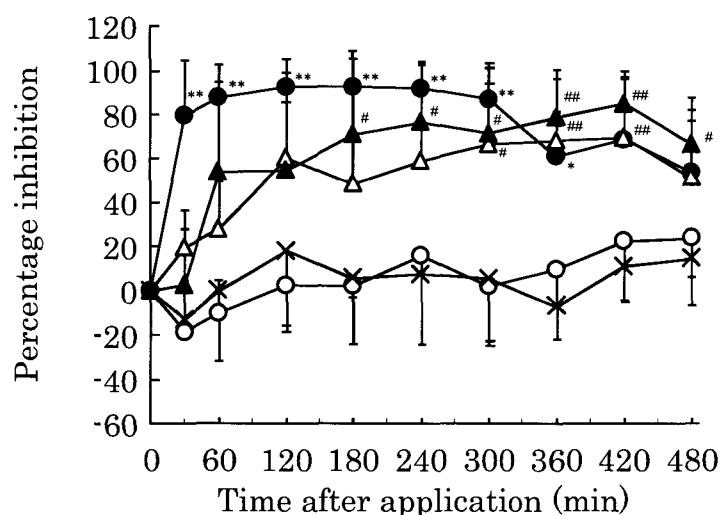


Fig.14. A comparison of inhibitory effects of oral and percutaneous application of formoterol on histamine (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.)-induced increase in airway resistance in anesthetized guinea-pigs

○, oral (saline); ●, oral (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$); ×, percutaneous (0 $\mu\text{g}/\text{guinea-pig}$); △, percutaneous (400 $\mu\text{g}/\text{guinea-pig}$); ▲, percutaneous (1000 $\mu\text{g}/\text{guinea-pig}$). Data are mean \pm S.D. values for four guinea-pigs. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. the saline treated group, # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ vs. the control matrix patch treated group (Dunnett's test).

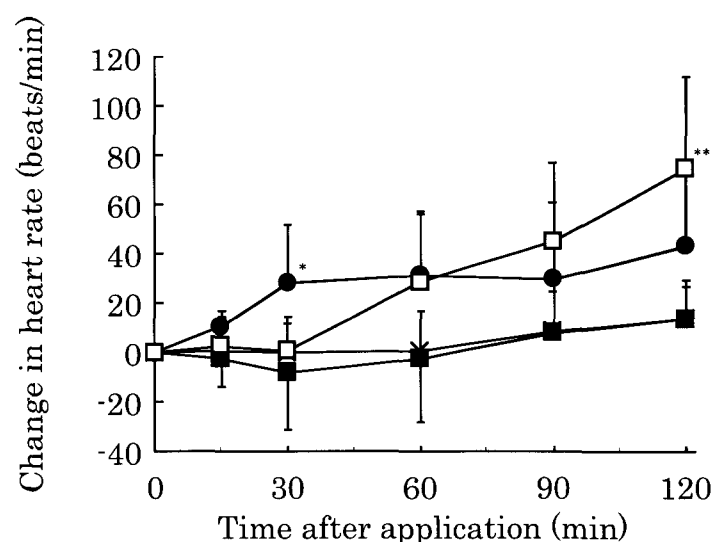


Fig. 15. Effects of oral and percutaneous application of formoterol on heart rate in anesthetized rats
 ● , oral (300µg/kg); × , percutaneous (0µg/rat); ■ , percutaneous (500µg/rat); □ , percutaneous (1000µg/rat). Data are mean ± S.D. values for five to six rats. Heart rate values are relative to the value just before application of formoterol. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. the control matrix patch treated group (Dunnett's test).

第 3.6 節 小括

吸収促進剤として *L*-メントール, 溶解剤として NMP, 粘着付与剤として HRG を含有する 28 種類の EVA テープ剤を調製した. テープ剤調製時の乾燥工程における *L*-メントールの昇華は, NMP と溶剤であるトルエンの配合量には影響を受けないが, NMP は粘着剤混合物の構成要素であるトルエンの影響を受けることが明らかとなった.

FF の皮膚透過性は, EVA テープ剤中の *L*-メントールと NMP 含量の増加とともに増大した. また, *L*-メントールは経皮吸収促進剤としてのみならず, FF の安定化剤としても機能することが示唆された.

EVA テープ剤による経皮投与は，心血管系に影響を及ぼすことなく，長時間気管支拡張作用を示したことから，低用量で長時間にわたり喘息をコントロール可能なテープ剤であることが示唆された．

第 4 章 FF の皮膚透過性と刺激性の改善⁴⁷⁾

前章において選択された EVA テープ剤は、動物実験で心血管系に影響を及ぼすことなく、長時間気管支拡張作用を示したことから、低用量で長時間にわたり喘息をコントロール可能なテープ剤であり、ヒトでの喘息を治療する上で十分な血中濃度を示す安定な製剤であると予想された。

EVA テープ剤はウサギの皮膚に対して強い粘着性を示し、剥離時の物理的刺激によると思われる刺激性を示した。しかし、ヒト皮膚に対する粘着力は、ウサギに対する粘着力より弱く、粘着力及びこれに起因すると思われる刺激性の発現には種差があると考えられる。

そこで、本章では、エチルセルロース (EC) 及びオクチルドデカノール (OD) が FF の皮膚透過性とテープ剤の皮膚刺激性に与える影響について検討した。皮膚刺激性についてはウサギ、モルモット、ラット及びミニブタを用いて、皮膚一次刺激性試験を実施し、皮膚刺激性における種差についても検討した。

第 4.1 節 FF の皮膚透過性に及ぼす EC と OD の効果

調製した EVA テープ剤の処方を Table 7 に示す。単位面積あたりの FF の含量が等しくなるように、EC を含有しない EVA テープ剤は暑さ 68 μm に、EC を含有する EVA テープ剤は暑さ 80 μm になるように調製した。

Table 7. Compositions of EVA matrix patches per square centimeter

Ingredient	Quantity (mg)			
	Without EC	OD-0	OD-0.5	OD-1
FF	0.08	0.08	0.08	0.08
<i>l</i> -Menthol	1.50	1.50	1.50	1.50
NMP	0.52	0.52	0.52	0.52
EVA	2.83	2.83	2.83	2.83
HRG	1.85	1.85	1.35	0.85
EC	-	1.25	1.25	1.25
OD	-	-	0.50	1.00

EVA テープ剤からの FF のラット及びヒト皮膚透過量の時間推移をそれぞれ Fig.16 及び 17 に示す. EC を含有する EVA テープ剤からの FF の 24 時間後のラット皮膚透過量は, EC を含まないテープ剤と比較して減少した. EVA テープ剤は透明で, FF の溶解性は EC の配合による影響は受けず, 溶解状態で存在していると考えられる. したがって, 皮膚透過性の違いは, EVA テープ剤の厚さが増加したために薬物の放出が遅くなり, 結果として皮膚透過速度が遅くなったと考えられる.

HRG の代わりに OD を加えることにより, 24 時間後の FF のラット皮膚透過性は著しく亢進した. OD の配合量を 0 から 1.0 mg/cm²に増すと, 24 時間後の皮膚透過性はラット皮膚で 1.94 倍, ヒト皮膚で 6.33 倍になった. 薬物の熱力学的活動度の増加は, 皮膚のバリア機能を変化させ, 皮膚透過性を亢進させる⁴⁸⁾. また, 可塑剤はテープ剤中の薬物の流動性を増加させるため, 結果的に粘着特性にも影響を与える⁴⁹⁾. 従って, OD は基剤に柔軟性を与え流動性を改善する可塑剤として機能すると考えられる.

薬物の皮膚透過性を改善する方法は吸収促進剤の使用であり^{23,24)}, IPM/NMP^{25,26)}や *l*-メントール/エタノール²⁷⁾のような混合溶媒の効果も報告されている. また, *l*-メントール及び NMP を含有する EVA テープ剤からの FF の皮膚透過性は *l*-メントール及び NMP の配合量が増加するほど高くなる⁴¹⁾. 従って, 吸収促進剤である *l*-メントールの熱力学的活動度が増大したために, OD の配合により間接的に FF の皮膚透過性が向上したと考えられる.

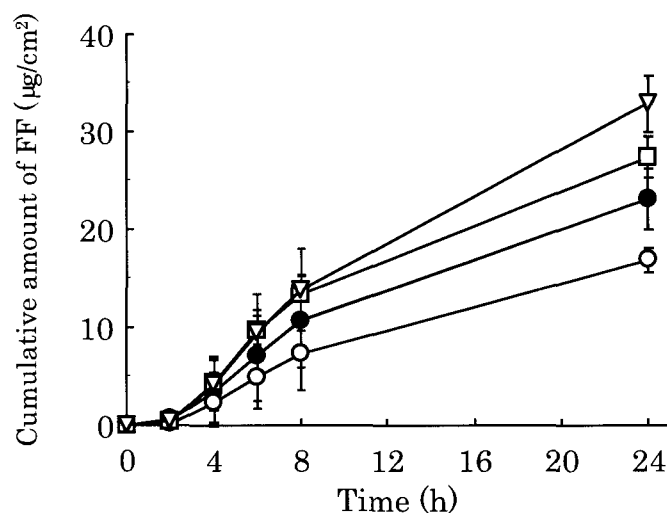


Fig. 16. Effects of EC and OD on rat skin permeation of FF from EVA matrix patches containing *l*-menthol and NMP
 ●, Without EC; ○, OD-0; □, OD-0.5; ▽, OD-1. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of three determinations.

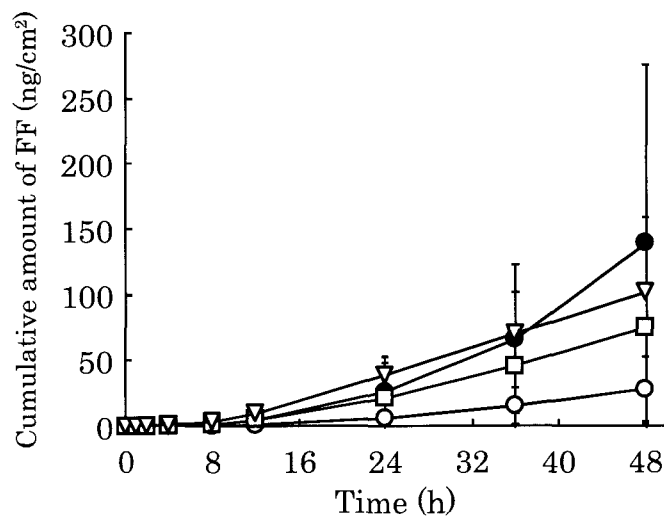


Fig. 17. Effects of EC and OD on human skin permeation of FF from EVA matrix patches containing *l*-menthol and NMP
 ●, Without EC; ○, OD-0; □, OD-0.5; ▽, OD-1. Each point and bar represent the mean \pm S.D. of four determinations.

第 4.2 節 FF のラット及びヒト皮膚透過性の比較

EVA テープ剤からの FF のラット及びヒト皮膚透過性は、同様の傾向を示し、*t*-メントール及び NMP の吸収促進作用により、ラグタイムも認められず直ちに皮膚を透過した。種差については多くの研究がなされており、マウス、ラット、モルモットの皮膚はヒト皮膚よりも薬物の透過性が高いとされている⁵⁰⁻⁵³⁾。本研究において 24 時間までの累積透過量を比較すると、ラットではヒトの 1000 倍程度透過しやすいことが明らかとなった。

第 4.3 節 EVA テープ剤の皮膚刺激性

皮膚刺激性の評価は、Draize ら⁵⁴⁾の評価基準に基づいてスコア化し、各観察時点の平均評点を算出した。また、適用後 24 及び 72 時間の評点から一次刺激指数 (P. I. I.) を算出して、被験物質及び対照物質の刺激度を分類した (Table 8)。

Table 8. Evaluation criteria for skin reactions

Skin reactions	Value
Erythema and eschar formation	
No erythema	0
Very slight erythema (barely perceptible)	1
Well defined erythema	2
Moderate to severe erythema	3
Severe erythema (beef redness) to slight eschar formation (injury in depth)	4
Edema formation	
No edema	0
Very slight edema (barely perceptible)	1
Slight edema (edges of area well defined by definite elevation)	2
Moderate edema (raised approximately 1 mm)	3
Severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond the area of exposure)	4
Primary irritation score	
Mild: 0~2. Moderate: 2~5. Severe: 5~8	

皮膚一次刺激性試験の結果を Table 9-12 に示す。ウサギでは、すべての EVA テープ剤でごく軽度の浮腫を伴った、ごく軽度から明らかな紅斑がみられた。EC 不含、OD-0、OD-0.5 及び OD-1 貼付 24 時間後の刺激性の評点は、それぞれ 2.00、1.67、1.67 及び 1.83 で、これらの紅斑及び浮腫はその後徐々に消失した。なお、EC 不含、OD-0、OD-0.5 及び OD-1 適用後 24 及び 72 時間の評点より算出した一次刺激指数は、それぞれ 1.46、1.13、1.29、1.38 で、日局絆創膏の一次刺激指数 0.21 より高い値を示したが、いずれも安全性区分上の‘弱い刺激物’に分類された。モルモットでは、EC 不含、OD-0、OD-0.5 及び OD-1 の一次刺激指数はそれぞれ 1.83、1.17、1.42 及び 1.42 で、日局絆創膏の一次刺激指数 1.50 と差がなく、安全性区分上の‘弱い刺激物’に分類された。ラットでは、EC 不含、OD-0、OD-0.5 及び OD-1 の一次刺激指数はそれぞれ 1.00、0.50、0.50 及び 0.63 で、日局絆創膏の一次刺激指数 0.50 と差がなく、安全性区分上の‘弱い刺激物’に分類された。ミニブタでは、いずれも一次刺激指数

は 0 であり，安全性区分上の‘刺激性なし’に分類された．このように，日局絆創膏と比較して，ウサギではわずかに強い皮膚刺激が認められたが，モルモット，ラット及びミニブタでは同程度あるいはそれ以下の皮膚刺激しか認められなかった．

外用剤の適用により皮膚刺激が発現する要因として，薬物や基剤など成分による化学的なものが考えられる⁵⁵⁻⁵⁸⁾．さらに，テープ剤は剥離時の刺激があることから⁵⁹⁾，製剤化において皮膚刺激を低減させる粘着特性を持たせる必要がある．本研究では，基剤として EC を添加し，HRG の代わりに OD を配合することによる皮膚刺激性の低減が示された．

Table 9. Primary rabbit skin irritation scores for EVA matrix patches

Test substance	Skin condition	Skin reaction	Irritation score (Mean score)			P. I. I. ^{b)}
			24hr ^{a)}	48hr	72hr	
Without EC	Abraded	E and E ^{c)}	9 (1.50 ^{d)})	8 (1.17)	5 (0.67)	1.46
		Edema	4 (0.67)	1 (0.17)	0 (0)	
	Intact	E and E	8 (1.33)	7 (1.17)	5 (0.67)	
		Edema	3 (0.50)	1 (0.17)	1 (0.17)	
	Total		24 (2.00)	17 (1.42)	11 (0.92)	
OD-0	Abraded	E and E ^{c)}	7 (1.17)	7 (1.33)	3 (0.50)	1.13
		Edema	1 (0.17)	0 (0.17)	0 (0)	
	Intact	E and E	8 (1.33)	7 (1.17)	4 (0.67)	
		Edema	4 (0.67)	0 (0.17)	0 (0)	
	Total		20 (1.67)	14 (1.17)	7 (0.58)	
OD-0.5	Abraded	E and E ^{c)}	8 (1.33)	6 (1.00)	5 (0.83)	1.29
		Edema	3 (0.50)	1 (0.17)	0 (0)	
	Intact	E and E	6 (1.00)	6 (1.00)	5 (0.83)	
		Edema	3 (0.50)	1 (0.17)	1 (0.17)	
	Total		20 (1.67)	14 (1.17)	11 (0.92)	
OD-1	Abraded	E and E ^{c)}	8 (1.33)	8 (1.33)	5 (0.83)	1.38
		Edema	4 (0.67)	1 (0.17)	0 (0)	
	Intact	E and E	8 (1.33)	7 (1.17)	6 (1.00)	
		Edema	2 (0.33)	1 (0.17)	0 (0)	
	Total		22 (1.83)	17 (1.42)	11 (0.92)	
Adhesive plaster	Abraded	E and E ^{c)}	3 (0.50)	3 (0.50)	0 (0)	0.21
		Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Intact	E and E	2 (0.33)	2 (0.33)	0 (0)	
		Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total		5 (0.42)	5 (0.42)	0 (0)	

Each test substance was used for 6 animals and was prepared for 6 abraded sites and 6 intact sites.

a) Time after application

b) Primary irritation index = $[\Sigma \text{ Individual total skin irritation score (at 24 hr + at 72 hr)} / 4] / \text{Number of animals}$

c) Erythema and eschar formation

d) Irritation score / the number of sites

Table 10. Primary guinea pig skin irritation scores for EVA matrix patches

Test substance	Skin reaction	Irritation score (Mean score)			P. I. I. ^{b)}
		24hr ^{a)}	48hr	72hr	
Without EC	E and E ^{c)}	12 (2.00 ^{d)})	7 (1.17)	5 (0.83)	1.83
	Edema	4 (0.67)	4 (0.67)	1 (0.17)	
	Total	16 (2.67)	11 (1.83)	6 (1.00)	
OD-0	E and E	10 (1.67)	5 (0.83)	2 (0.33)	1.17
	Edema	2 (0.17)	2 (0.33)	0 (0)	
	Total	12 (2.00)	7 (1.17)	2 (0.33)	
OD-0.5	E and E	12 (2.00)	7 (1.17)	4 (0.67)	1.42
	Edema	1 (0.17)	1 (0.17)	0 (0)	
	Total	13 (2.17)	8 (1.33)	4 (0.67)	
OD-1	E and E	11 (1.83)	7 (1.17)	4 (0.67)	1.42
	Edema	2 (0.33)	2 (0.33)	0 (0)	
	Total	13 (2.17)	9 (1.50)	4 (0.67)	
Adhesive plaster	E and E	12 (2.00)	9 (1.50)	5 (0.83)	1.50
	Edema	1 (0.17)	1 (0.17)	0 (0)	
	Total	13 (2.17)	10 (1.67)	5 (0.83)	

Each test substance was used for 6 animals.

a) Time after application

b) Primary irritation index = $[\Sigma \text{ Individual total skin irritation score (at 24 hr + at 72 hr)} / 2] / \text{Number of animals}$

c) Erythema and eschar formation

d) Irritation score / the number of sites

Table 11. Primary rat skin irritation scores for EVA matrix patches

Test substance	Skin reaction	Irritation score (Mean score)			P. I. I. ^{b)}
		24hr ^{a)}	48hr	72hr	
Without EC	E and E ^{c)}	5 (1.25 ^{d)})	4 (1.00)	3 (0.75)	1.00
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	5 (1.25)	4 (1.00)	3 (0.75)	
OD-0	E and E	1 (0.25)	3 (0.75)	3 (0.75)	0.50
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	1 (0.25)	3 (0.75)	3 (0.75)	
OD-0.5	E and E	2 (0.50)	3 (0.75)	2 (0.50)	0.50
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	2 (0.50)	3 (0.75)	2 (0.50)	
OD-1	E and E	3 (0.75)	4 (1.00)	2 (0.50)	0.63
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	3 (0.75)	4 (1.00)	2 (0.50)	
Adhesive plaster	E and E	3 (0.75)	2 (0.50)	1 (0.25)	0.50
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	3 (0.75)	2 (0.50)	1 (0.25)	

Each test substance was used for 4 animals.

a) Time after application

b) Primary irritation index = $[\Sigma \text{ Individual total skin irritation score (at 24 hr + at 72 hr)} / 2] / \text{Number of animals}$

c) Erythema and eschar formation

d) Irritation score / the number of sites

Table 12. Primary miniature-swine skin irritation scores for EVA matrix patches

Test substance	Skin reaction	Irritation score (Mean score)			P. I. I. ^{b)}
		24hr ^{a)}	48hr	72hr	
Without EC	E and E ^{c)}	0 (0 ^{d)})	0 (0)	0 (0)	0
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
OD-0	E and E	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
OD-0.5	E and E	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
OD-1	E and E	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Adhesive plaster	E and E	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0
	Edema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

Each test substance was applied in 4 places.

a) Time after application

b) Primary irritation index = $[\Sigma \text{ Individual total skin irritation score (at 24 hr + at 72 hr)} / 2] / \text{Number of animals}$

c) Erythema and eschar formation

d) Irritation score / the number of sites

第 4.4 節 皮膚刺激性の種差

EVA テープ剤による皮膚刺激は、ウサギ、モルモット、ラット、ミニブタの順に低くなることが明らかとなった。一般に、刺激性試験には、ウサギ又はモルモットが用いられるが、刺激性試験の結果をヒトにあてはめる場合、ウサギ及びモルモットでは感受性が高すぎ、必ずしも適当であるとはいえない。一方、ミニブタの感受性はヒトに比べて低い、組織学的にヒト皮膚に似ていること、また、皮膚透過性もヒトに似ていることから、刺激性試験に適しているとされている⁶⁰⁻⁶²⁾。EVA テープ剤はウサギ及びモルモットでは刺激性が認められたものの、ミニブタでは刺激性の発現は認められなかったことから、ヒトでの刺激性が発現する可能性は低いと考えられる。

第 4.5 節 小括

EC を含有する EVA テープ剤からの FF の 24 時間後のラット皮膚透過量は EC を含まないテープ剤と比較して減少したが、HRG の代わりに OD を加えることにより、24 時間後の FF のラット皮膚透過性は著しく亢進した。これは、吸収促進剤である *L*-メントールの熱力学的活動度が増大したために、OD の配合により間接的に FF の皮膚透過性が向上したものと考えられる。

EVA テープ剤からの FF のラット及びヒト皮膚透過性は、同様の傾向を示し、*L*-メントール及び NMP の吸収促進作用により、ラグタイムも認められず直ちに皮膚を透過したが、24 時間までの累積透過量を比較すると、ラットではヒトの 1000 倍程度透過しやすいことが明らかとなった。

皮膚刺激性に関しては、基剤として EC を添加し、HRG の代わりに OD を配合することによる皮膚刺激性の低減が示された。また、皮膚刺激は、ウサギ、モルモット、ラット、ミニブタの順に低くなることが明らかとなった。ウサギ及びモルモットでは刺激性が認められたものの、ミニブタでは刺激性の発現は認められなかったことから、ヒトでの刺激性が発現する可能性は低いと考えられる。

第 5 章 総括

本研究は、就寝前に適用して明け方においても有効血中濃度を保ち、モーニングディップを抑制できる **FF** テープ剤の開発を目的としたものである。**FF** の皮膚透過性、放出性について検討し、選択した **FF** テープ剤の経皮吸収性、薬理、安全性について評価し、その結果、以下に示す知見が得られた。

1. **FF** の皮膚透過に及ぼす各種化合物の効果

単一溶媒では、**FF** の皮膚透過はテルペン、脂肪酸エステル、高級アルコール類で著しく促進され、特にシネオール、メントン、酢酸リナリル、リノール酸エチル、セバシン酸ジエチル、**IPM** が高い促進効果を示した。

高濃度での混合溶媒系では、シネオール/**NMP**、*l*-メントール/**NMP** と **IPM**/**NMP** の混合溶媒が高い促進効果を示し、*l*-メントール/**NMP** の比率が 60/40 w/w のとき、皮膚透過性が最大となることを明らかにした。

2. テープ剤からの **FF** の放出性

SIS, **MMA-BA**, **MA-2EHA**, シリコーン及び **EVA** を用いてテープ剤を調製し、**FF** の放出性を比較した結果、粘着剤の種類により放出性は異なり、粘着剤や添加物の性状に依存することを明らかにした。

PVP を含有する **MA-2EHA** テープ剤中の **FF** は、**PVP** が 0.6 % までは影響を受けなかったが、0.6 % 以上になると親水性が高くなり、初期バースト現象が現れるようになる。また、*l*-メントール/**NMP** や **IPM**/**NMP** を添加した **PVP** を含有する **MA-2EHA** テープ剤からの **FF** の累積皮膚透過量は、24 時間にわたり直線的に増加した。特に、*l*-メントール/**NMP** を配合したテープ剤は、**FF** の皮膚透過性には優れるが、エマルション型粘着剤を使用しているために、テープ剤中の水分を完全に蒸発させることができず、**FF** の安定性の保持が困難であった。

3. EVA テープ剤の調製と評価

吸収促進剤として *L*-メントール、溶剤として NMP、粘着付与剤として HRG を含有する 28 種類の EVA テープ剤を調製した。テープ剤調製時の乾燥工程における *L*-メントールの昇華は、NMP と溶剤であるトルエンの配合量には影響を受けないが、NMP は粘着剤混合物の構成要素であるトルエンの影響を受けることが明らかとなった。

FF の皮膚透過性は、EVA テープ剤中の *L*-メントールと NMP 含量の増加とともに増大した。また、*L*-メントールは経皮吸収促進剤としてのみならず、FF の安定化剤としても機能することを見いだした。

EVA テープ剤による経皮投与は、心血管系に影響を及ぼすことなく、長時間気管支拡張作用を示したことから、低用量で長時間にわたり喘息をコントロール可能なテープ剤であることが示唆された。

4. FF の皮膚透過性と刺激性の改善

皮膚透過性や皮膚刺激性は、基剤として EC を添加し、HRG の代わりに OD を配合することにより変化した。また、EVA テープ剤からの FF の皮膚透過性については、ラットではヒトの 1000 倍程度透過しやすいこと、皮膚刺激は、ウサギ、モルモット、ラット、ミニブタの順に低くなることを明らかにした。ウサギ及びモルモットでは刺激性が認められたものの、ミニブタでは刺激性の発現は認められず、ヒトでの刺激性が発現する可能性は低いものと考えられる。

以上より、テープ剤による FF の経皮投与は、心血管系に影響を及ぼすことなく、長時間にわたり気管支拡張作用を示し、皮膚刺激性も低いことが明らかとなった。本剤は就寝前に適用して明け方においても有効血中濃度を保ち、モーニングディップを抑制可能な TTS としての臨床応用が可能であると考えられる。

実験の部

第 1 章 実験の部

第 1.1 節 試薬

FF は山之内製薬（株）より供与されたものを用いた．その他の試薬は市販の試薬特級品をそのまま用いた．

第 1.2 節 *In vitro* ラット皮膚透過実験

Wistar 系雄性ラット（日本 SLC（株），体重 170～200 g）の腹部除毛皮膚を摘出し， -40°C に保存した．摘出皮膚を，2-チャンバー拡散セル（有効拡散面積， 0.785 cm^2 ；セル容量，4.0 ml）に固定し，ドナー溶液には $10\text{ }\mu\text{l}$ のエタノールに溶解した FF $50\mu\text{g}$ を含有する各種化合物 4ml を適用した．また，フランチ型拡散セル（有効拡散面積， 0.950 cm^2 ；セル容量，4.0 ml）を用いた試験では，FF $54\text{ }\mu\text{g}$ を含有する各種化合物 $135\text{ }\mu\text{l}$ を適用した．レシーバー溶液には 4 ml の生理食塩液を使用し，セル温度を 37°C に保ち，セル内を絶えずスターラーで攪拌した．一定時間毎にレシーバー溶液を 0.5 又は 0.3 ml 採取し，直ちに 37°C の同量の生理食塩液を加えた．

採取したレシーバー溶液に 0.5 M リン酸緩衝液（pH 9.0）1.0 ml を加えボルテックスミキサーで攪拌した後，酢酸エチル 3.0 ml を加え，10 分間振とうした．遠心分離後（3000 rpm，10 分），有機層 2.5 ml を沈澱管に分取し， 40°C で加温しながら窒素気流下溶媒留去後，残留物に 0.1 M リン酸緩衝液（pH 3.5）0.3 ml を添加し，再溶解して試料溶液とした．電気化学検出器（ECD）を用いた HPLC による FF の定量条件は以下の通りである．

カラム:Nucleosil 100-5C18, 4.0×150mmI.D. (ジーエル サイエンス (株))

カラム温度:25°C

移動相:0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.5) /アセトニトリル (80:20 v/v) エデ
ト酸ナトリウムを 0.5 mg 含む

流量:0.6 ml/min

検出器:±650 mV Ag/AgCl (ECD-100 グラッシーカーボン, (株) エイコム)

注入量:20 µl

第 2 章 実験の部

第 2.1 節 試薬

FF は山之内製薬（株）より供与されたものを使用した。MAA-BA（プライマル N-580）及び MA-2EHA（ニカゾール TS-620）は、それぞれ日本アクリル化学（株）及び日本カーバイド工業（株）より購入した。シリコーン粘着剤（PSA6574）、SIS（クレイトン D-1107CP）、EVA（エバフレックス 45X）及び脂環族飽和炭化水素樹脂（アルコン P-90）、PVP（プラスドン K-90）はそれぞれ東芝シリコーン（株）、シェルジャパン（株）、三井・デュポンポリケミカル（株）、荒川化学工業（株）、アイエスピー・ジャパン（株）より購入して使用した。その他の試薬は市販の試薬特級品をそのまま用いた。

第 2.2 節 FF 含有テープ剤の調製

テープ剤はキャストイング法により調製した^{63,64)}。

アクリル系エマルジョン型粘着剤を用いた場合は、FF を水に分散又は NMP に溶解し、エタノール、*l*-メントール又は IPM を加えた後、PVP を加え混合した。この液をアクリル系エマルジョン型粘着剤中に加え、マグネチックスターラーを使用して室温で攪拌し、粘着剤混合物を調製した。

シリコーン、SIS、EVA を用いた場合は、粘着剤と粘着付与剤を溶剤となるトルエン中に加え、マグネチックスターラーを使用して室温で攪拌し、粘着剤溶液を得た。FF をメタノールに溶解し、この液を、先の粘着剤溶液中に攪拌しながら徐々に加え、粘着剤混合物を調製した。

これらの粘着剤混合物を、支持体であるポリエチレンテレフタレートフィルムに塗布し、70～130°C で 15～30 分間乾燥した後、剥離フィルムで覆い、厚さと重量を測定し、実験に供した。

第 2.3 節 放出試験

放出試験には、有効拡散面積 0.950 cm^2 のフランチ型拡散セルを使用し、放出液には 4 ml の生理食塩液を使用し、セル温度を 37°C に保ち、セル内を絶えずスターラーで攪拌した。ポンチで打ち抜かれたテープ剤 (0.785 cm^2) の剥離フィルムを剥がして、表面がレシーバー溶液に接するように固定し、一定時間毎にレシーバー溶液を 0.5 ml 採取し、直ちに 37°C の同量の生理食塩液を加えた。

採取したレシーバー溶液に内部標準溶液(パラヒドロキシ安息香酸メチルのメタノール溶液) 0.5 ml を加え、ボルテックスミキサーで攪拌して試料溶液とした。HPLC による FF の定量条件は以下の通りである。

カラム:L-column, $4.6\times 150\text{mmI.D.}$ ((財) 化学品検査協会)

カラム温度: 40°C

移動相:水/メタノール/Pic-B5 (550:450:20 v/v)

流量: 0.6 ml/min

検出器:UV 265 nm (SPD-10A, (株) 島津製作所)

注入量: $20\text{ }\mu\text{l}$

第 3 章 実験の部

第 3.1 節 試薬

FF 及びブロモホルモテロールは山之内製薬（株）より供与されたものを使用した。EVA, HRG（エステルガム H）, *l*-メントール, NMP はそれぞれバイエル（株）, 荒川化学工業（株）, 高砂香料工業（株）, アイエスピー・ジャパン（株）より購入して使用した。その他の試薬は市販の試薬特級品をそのまま使用した。

第 3.2 節 EVA テープ剤の調製

テープ剤はキャストリング法により調製した^{63,64)}。

初めに EVA 16.4 %, HRG 10.7 %をトルエン 43.62～65.22 %に加え, 強力マグネチックスターラーで充分攪拌して粘着剤溶液を得た。別に, FF 0.48 %を NMP 4.8～14.4 %に溶解した後, *l*-メントール 2.4～14.4 %を加え溶解した。この液を先の粘着剤溶液中に攪拌しながら徐々に加え, 強力マグネチックスターラーで 4 時間以上攪拌し, 粘着剤混合物を得た。この粘着剤混合物を支持体であるポリエチレンテレフタレートフィルムに塗布し, 50°C で 10 分間乾燥した後, 剥離フィルムで覆い, 厚さと重量を測定し, 実験に供した。

第 3.3 節 *In vitro* ラット皮膚透過実験

フランチ型拡散セルを用い, 直径 11 mm にポンチで打ち抜いたテープ剤を, ドナー側に適用し, 第 1 章 第 1.2 節と同様の方法にて行った。

第 3.4 節 *In vivo* ラット経皮吸収実験 ⁴²⁾

体重 180～200 g の Wistar 系雄性ラット (1 群 5 匹) を用いた。投与前日に、ラットをエーテルで麻酔後、腹部被毛を電気バリカン及びシェーバーを用いて除毛した。テープ剤 (2.0×1.5 cm, 0.25 mg/ラット) を腹部皮膚に適用後、体幹部を包み込むように粘着性伸縮包帯 (エラストポア, ニチバン (株)) で固定した。FF を生理食塩液に溶解した液 (0.5 mg/ml) を、経口投与では胃ゾンデにより胃内へ強制投与し、静脈内投与では尾静脈から投与 (0.5 ml/ラット) した。経皮、経口、静脈内いずれの投与経路の場合も投与量は 250 µg/ラットとした。薬剤投与後、エーテル麻酔下で一定時間毎に頸静脈より血液 0.3 ml を採取し、遠心分離後血漿を分取した。

ネジロ沈澱管に血漿 0.1 ml を取り、内標準物質 (ブロモホルモテロール) を 0.5 ng 含有する水溶液 50 µl 及び 0.8 M リン酸緩衝液 (pH 9.5) 1 ml を加えボルテックスミキサーで攪拌した後、*t*-ブチルメチルエーテル 3.0 ml を加え 15 分間振とうした。遠心分離 (3000 rpm, 10 分間) 後、有機層をネジロ円錐管に分取し、45°C で加温しながら窒素気流下溶媒留去後、残留物にメタノール/50mM 炭酸水素アンモニウム (1:1 v/v) 200 µl を添加し、再溶解して試料溶液とした。LC/MS/MS によるホルモテロールの定量条件は以下の通りである

カラム: CAPCELL PAK C18 UG120, 2.0×150mm I.D. (資生堂 (株))

カラム温度: 40°C

移動相: メタノール/50 mM 炭酸水素アンモニウム (1:1 v/v)

流速: 0.2 ml/min

注入量: 20 µl

分析時間: 8 min

質量分析計 (TSQ7000, Finigan MAT)

イオン化モード: ESI

検出モード: Positive

キャピラリー温度: 250°C

スプレー電圧: 4.5 kV

マニホールド温度:70°C

マルチプライヤー:1.2 kV

モニタリングイオン: FF m/z 344.9 → 121.0

ブロモホルモテロール m/z 422.8 → 120.9

第 3.5 節 ヒスタミン誘発気道収縮反応に対する作用

気道収縮反応の測定は, Konzett and Lössler 法⁶⁵⁾を改良して行った.

ハートレー系雄性モルモット (400~650 g) は, 日本エスエルシー (株) より購入し, 室温 23±1°C, 湿度 55±10%の条件下で飼育した. 動物は, 水道水及び固形飼料を自由に摂取させ, 5 日以上の予備飼育後に実験に供した.

モルモットをウレタン麻酔下 (1.5 g/kg, i.p.) で背位に固定し, 気管及び頸静脈にカニューレを挿入した. 気道圧の測定は気道カニューレを介し, 60 stroke/min の人工呼吸下, 気道への送気圧を圧トランスデューサー及び圧力アンプ (AP601G, 日本光電 (株)) で検出し, レコーダーに記録した. 試験は, サクシニルコリンクロライド (1mg/kg, i.v.) により自発呼吸停止条件下で行った. なお, 静脈内及び経口投与による薬剤処置は, それぞれヒスタミン投与前 1 及び 30 分に行った.

第 3.6 節 循環器に及ぼす影響

Wistar 今道系雌性ラット (200~260 g) は動物繁殖研究所から購入し, 室温 23±1°C, 湿度 55±10%の条件下で飼育した. 動物は, 水道水及び固形飼料を自由に摂取させ, 5 日以上の予備飼育後に実験に供した.

ラットをウレタン麻酔下 (1.0 g/kg, i.p.), 気管, 頸静脈及び大腿動脈にカニューレを挿入した. 動脈カニューレを圧力用アンプ (AP601G, 日本光電 (株)) に接続された圧トランスデューサーに連結した. 検出された動脈圧は, ポリグラフ上に記録した. 心拍数の測定は, 血圧脈波を心拍用アンプ (AT601G, 日

本光電（株）に導出して測定した．

第 4 章 実験の部

第 4.1 節 試薬

FF 及びブロモホルモテロールは山之内製薬（株）より供与されたものを使用した。EVA, HRG, EC（エトセル）, OD, *l*-メントール, NMP はそれぞれバイエル（株）, 荒川化学工業（株）, ダウ・ケミカル日本（株）, 高級アルコール工業（株）, 高砂香料工業（株）, アイエスピー・ジャパン（株）より購入して使用した。その他の試薬は市販の試薬特級品をそのまま使用した。

第 4.2 節 EVA テープ剤の調製

初めに EVA, HRG, EC, OD をトルエンに加え、強力マグネチックスターラーで充分攪拌して粘着剤溶液を得た。別に、FF を NMP に溶解した後、*l*-メントールを加え溶解した。この液を先の粘着剤溶液中に攪拌しながら徐々に加え、強力マグネチックスターラーで 4 時間以上攪拌し、粘着剤混合物を得た。この粘着剤混合物を支持体であるポリエチレンテレフタレートフィルムに塗布し、50°C で 10 分間乾燥した後、剥離フィルムで覆い、厚さと重量を測定し、実験に供した。

第 4.3 節 *In vitro* ラット皮膚透過実験

フランチ型拡散セルを用い、直径 11 mm にポンチで打ち抜いたテープ剤を、ドナー側に適用し、第 1 章 第 1.2 節と同様の方法にて行った。

第 4.4 節 *In vitro* ヒト皮膚透過実験

In vitro ヒト皮膚透過性は、2 人の白人（35, 46 歳）の腹部から摘出した皮膚を使用し、Sandt らの 6-well を用いた方法⁶⁶⁾により実施した。ガラスリング（有効拡散面積:1.50 cm²）を接着剤で皮膚表面に固定した後、セル上部の 200 μm メッシュのポリエステル製網（直径 24 mm, コースター（株））上にレシーバー溶液が皮膚裏面に接するように設置した。レシーバー溶液には 0.01 %アジ化ナトリウム, 3 %ウシ血清アルブミンを含む生理食塩液 1.2 ml を用いた。ドナー側にテープ剤（1.33 cm²）を適用後、32°C で 5 %二酸化炭素, 40 %酸素のインキュベーター中で 1 分間に 9 回振とうし、一定時間毎にレシーバー溶液 0.6 ml を採取し、直ちに同量のレシーバー溶液を加えた。

ネジロ沈澱管にレシーバー溶液 0.1 ml を取り、内標準物質（ブロモホルモテロール）を 0.5 ng 含有する水溶液 50 μl 及び 0.8 M リン酸緩衝液（pH 9.5）1 ml を加え、ボルテックスミキサーで攪拌した後、*n*-ブチルメチルエーテル 3.0 ml を加え 15 分間振とうした。遠心分離（3000 rpm, 10 分間）後、有機層をネジロ円錐管に分取し、45°C で加温しながら窒素気流下溶媒留去後、残留物にメタノール/50 mM 炭酸水素アンモニウム（1:1 v/v）200 μl を添加し、再溶解して試料溶液とした。LC/MS/MS によるホルモテロールの定量条件は第 3 章第 3.4 節と同じである。

第 4.5 節 皮膚一次刺激性試験

動物は日本白色種雄性ウサギ（体重 3.67～4.39 kg）、ハートレー系雄性モルモット（体重 340～392 g）、Wistar 系雄性ラット（体重 160～206 g）ならびゲッチング系雄性ミニブタ（体重 30 kg）を使用した。試験前日にウサギ及びミニブタでは背部被毛を、モルモット及びラットでは腹部被毛を、電気バリカン及び電気カミソリを用いて除毛した。滅菌針（23G, テルモ（株））で井桁状の擦り傷 4 本をつけ損傷皮膚を作製した。2.5×2.5 cm のテープ剤及び対照物質を所定の適用部位に貼付し、油紙で覆った後、不織布粘着包帯（メッシュ

ポア，ニチバン（株））で固定し，さらに適用部位全体をガーゼで覆い，粘着性伸縮包帯にて被覆した．適用後 24 時間に被験物質を除去し，適用部位を微温湯で湿らせた脱脂綿で軽く拭き取り，30 分間放置した後，適用部位を観察（適用後 24 時間）した．さらに適用後 48 及び 72 時間にも紅斑，痂皮形成及び浮腫形成について観察し，Draize ら⁵⁴⁾の評価基準に基づいて採点して各観察時点の平均評点を算出した．また，適用後 24 及び 72 時間の評点から一次刺激指数（P. I. I.）を算出して被験物質及び対照物質の刺激度を分類した．

謝辞

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導並びに御鞭撻を賜りました星薬科大学薬学部 薬剤学教室 高山幸三教授に衷心より深甚なる謝意を表します。

また、本研究の機会をお与えくださり、終始御激励とご配慮を賜りました、埼玉第一製薬（株）高山敏元常務取締役、山内仁史取締役研究開発部長、高安敏幸参事に深く感謝します。

また、本研究の推進にあたり、多大なる御協力を賜りました埼玉第一製薬（株）研究開発部諸氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) Cleary G. W., Transdermal delivery system: A medical rationale, "Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration", eds. by Shah V. P., Maibach H. I., Plenum Press, New York, 1993, pp. 17-68.
- 2) Chandrasekaran S. K., Bayne W., Shaw J. E., Pharmacokinetics of drug permeation through human skin, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1370-1374 (1978).
- 3) Chien Y. W., Keshary P. R., Huang Y. C., Sarpotdar P. P., Comparative controlled skin permeation of nitroglycerin from marketed transdermal delivery systems, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 968-970 (1983).
- 4) Otsuka S., Kitamura K., Isosorbide dinitrate tape "Frاندol tape-s", *Nitto Giho*, **31**, 112-115 (1993).
- 5) Langley M. S., Heel R. C., Transdermal clonidine: Apreliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy, *Drugs*, **35**, 123-142 (1988).
- 6) Kato H., Nagata O., Yamazaki M., Suzuki T., Nakano Y., Development of transdermal formulation of tulobuterol for the treatment of bronchial asthma, *J. Pharm. Soc. Jpn.*, **122**, 57-69 (2002).
- 7) Green P. G., Iontophoretic delivery of peptide drugs, *J. Controlled Release*, **41**, 33-48 (1996).
- 8) James M. P., Graham R. M., English J., Percutaneous iontophoresis of prednisolone- a pharmacokinetic study, *Clin. Exp. Dermatol.*, **2**, 54-61 (1986).
- 9) Bommannan D., Okuyama H., Stauffer P., Guy R. H., Sonophoresis. I. The use of high-frequency ultrasound to enhance transdermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **9**, 559-564 (1992).
- 10) Bommannan D., Menon G. K., Okuyama H., Elias P. M., Guy R. H., Sonophoresis. II. Examination of the mechanism(s) of ultrasound-enhanced transdermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **9**, 1043-1047 (1992).
- 11) McElnay J. C., Kennedy T. A., Harland R., The influence of ultrasound

- on the percutaneous absorption of fluocinolone acetonide, *Int. J. Pharm.*, **40**, 105-110 (1987).
- 12) Okabe H., Takayama K., Ogura A., Nagai T., Effect of limonene and related compounds on the percutaneous absorption of indomethacin, *Drug Design Delivery*, **4**, 313-321 (1989).
 - 13) Okabe H., Obata Y., Takayama K., Nagai T., Percutaneous absorption enhancing effect and skin irritation of monocyclic monoterpenes, *Drug Design Delivery*, **6**, 229-238 (1990).
 - 14) Barry B. W., Southwell D., Woodford R., Optimization of bioavailability of topical steroids: Penetration enhancers under occlusion, *J. Invest. Dermatol.*, **82**, 49-52 (1984).
 - 15) Woodford R., Barry B. W., Penetration enhancers and the percutaneous absorption of drugs: An update, *J. Toxicol. -Cut. Ocular Toxicol.*, **5**, 167-177 (1986).
 - 16) Cooper E. R., Increased skin permeability for lipophilic molecules, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1153-1156 (1984).
 - 17) Sato K., Sugibayashi K., Morimoto Y., Effect and mode of action of aliphatic esters on the in vitro skin permeation of nicorandil, *Int. J. Pharm.*, **43**, 31-40 (1988).
 - 18) Bartow R. A., Brogden R. N., Formoterol: An update of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of asthma, *Drugs*, **55**, 303-322 (1998).
 - 19) Faulds D., Hollingshead L. M., Goa K. L., Formoterol: A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in reversible obstructive airways disease, *Drugs*, **42**, 115-137 (1991).
 - 20) Kakubari I., Nakamura N., Takayasu T., Yamauchi H., Takayama S., Takayama K., Effects of solvents on skin permeation of formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 146-149 (2006).
 - 21) Akhter S. A., Barry B. W., Absorption through human skin of ibuprofen and flurbiprofen: effect of dose variation, deposited drug films,

- occlusion and the penetration enhancer N-methyl-2-pyrrolidone, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 27-37 (1985).
- 22) Obata Y., Takayama K., Okabe H., Nagai T., Effect of cyclic monoterpenes on percutaneous absorption in the case of a water-soluble drug (diclofenac sodium), *Drug Design Delivery*, **6**, 319-328 (1990).
 - 23) Ogiso T., Iwaki M., Paku T., Effect of various enhancers on transdermal penetration of indomethacin and urea, and relationship between penetration parameters and enhancement factors, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 482-488 (1995).
 - 24) Manabe E., Tanaka S., Sugibayashi K., Morimoto Y., Are there any specific enhancers to increase skin permeation of only lipophilic or hydrophilic drug?: Studies using several enhancers, *Yakuzaigaku*, **58**, 10-16 (1998).
 - 25) Hoelgaard A., Møllgaard B., Baker E., Vehicle effect on topical drug delivery. IV. Effect of N-methylpyrrolidone and polar lipids on percutaneous drug transport, *Int. J. Pharm.*, **43**, 233-240 (1988).
 - 26) Seki T., Kawaguchi T., Juni K., Sugibayashi K., Morimoto Y., Sustained transdermal delivery of zidovudine via controlled release of penetration enhancer, *J. Controlled Release*, **17**, 41-47 (1991).
 - 27) Morimoto Y., Sugibayashi K., Kobayashi D., Shoji H., Yamazaki J., Kimura M., A new enhancer-coenhancer system to increase skin permeation of morphine hydrochloride in vitro, *Int. J. Pharm.*, **91**, 9-14 (1993).
 - 28) Karino A., Hayashi M., Horie T., Awazu S., Minami H., Hanano M., Solvent drag effect in drug intestinal absorption. I. Studies on drug and D₂O absorption clearances, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **5**, 410-417 (1982).
 - 29) Lashmar U. T., Hadgraft J., Thomas N., Topical application of penetration enhancers to the skin of nude mice: A histopathological study, *J. Pharm. Pharmacol.*, **41**, 118-122 (1989).

- 30) Kakubari I., Kawakami J., Takayasu T., Yamauchi H., Takayama S., Takayama K., Influence of pressure sensitive adhesive properties on release of formoterol fumarate from matrix patches, *Material Technology*, 24, 339-344 (2006).
- 31) Hatanaka T., Oguchi M., Sugibayashi K., Morimoto Y., Influence of isosorbide dinitrate concentration on its skin permeability from adhesive matrix devices, *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 1802-1805 (1991).
- 32) Roy S. D., Gutierrez M., Flynn G. L., Cleary G. W., Controlled transdermal delivery of fentanyl: Characterizations of pressure-sensitive adhesives for matrix patch design, *J. Pharm. Sci.*, 85, 491-495 (1996).
- 33) Shin S. C., Byun S. Y., Controlled release of ethinylestradiol from ethylene-vinyl acetate membrane, *Int. J. Pharm.*, 137, 95-102 (1996).
- 34) Miyazaki S., Ishii K., Takeda M., Controlled release of anticancer agents through ethylene-vinyl acetate copolymer membranes, *Yakuzaigaku*, 42, 259-263 (1982).
- 35) Takayama K., Nagai T., Application of interpolymer complexation of polyvinylpyrrolidone/carboxyvinyl polymer to control of drug release, *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 4921-4927 (1987).
- 36) Sasaki N., Yokoyama T., The behaviors of intermolecular hydrogen bonds in the poly (acrylic acid)-poly (vinylpyrrolidone) polymer complex, *Kobunshi Ronbunshu*, 41, 9-17 (1984).
- 37) Tsuchida E., Osada Y., Ohno H., Formation of interpolymer complexes, *J. Macromol. Sci- Phys.*, B17, 683-714 (1980).
- 38) Tsutsui T., Nakano H., Tanaka R., Tanaka T., Physical properties of interpolymer complexes from poly (acrylic acid) and poly (vinylpyrrolidone), *Kobunshi Ronbunshu*, 35, 517-524 (1978).
- 39) Sekikawa H., Fujiwara J., Naganuma T., Nakano M., Arita T., Dissolution behaviour and gastrointestinal absorption of phenytoin in phenytoin- polyvinylpyrrolidone coprecipitate, *Chem. Pharm. Bull.*, 26,

- 3033-3039 (1987).
- 40) Akbuğa J., Gürsoy A., Kendi E., The preparation and stability of fast release furosemide- PVP solid dispersion, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 14, 1439-1464 (1988).
 - 41) Kakubari I., Shinkai N., Kawakami J., Uruno A., Takayasu T., Yamauchi H., Takayama S., Takayama K., Formulation and evaluation of ethylene- vinyl acetate copolymer matrix patch containing formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 513-516 (2006).
 - 42) Kakubari I., Dejima H., Miura K., Koga Y., Mizu H., Takayasu T., Yamauchi H., Takayama S., Takayama K., Determination of formoterol in rat plasma by liquid chromatography- electrospray ionisation mass spectrometry *Pharmazie*, 62, 94-95 (2007).
 - 43) Miyazaki S., Ishii K., Sugibayashi K., Morimoto Y., Takeda M., Antitumor effect of ethylene- vinyl acetate copolymer matrices containing 5-fluorouracil on ehrlich ascites carcinoma in mice, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 3770-3775 (1982).
 - 44) Miyazaki S., Takeuchi S., Takeda M., Ishii K., Factors affecting the release patterns of 5-fluorouracil from ethylene- vinyl acetate copolymer matrices, *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 1633-1636 (1984).
 - 45) Sokoloski T. D., Higuchi T., Kinetics of degradation in solution of epinephrine by molecular oxygen, *J. Pharm. Sci.*, 51, 172-177 (1962).
 - 46) Sassetti R. J., Fudenberg H. H., Alpha- methyl dopa melanin synthesis and stabilization in vitro, *Biochem. Pharmacol.*, 20, 57-66 (1971).
 - 47) Kakubari I., Sasaki H., Takayasu T., Yamauchi H., Takayama S., Takayama K., Effects of ethylcellulose and 2-octyldodecanol additives on skin permeation and irritation with ethylene- vinyl acetate copolymer matrix patches containing formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 1717-1722 (2006).
 - 48) Møllgaard B., Hoelgaard A., Vehicle effect on topical drug delivery. I. Influence of glycols and drug concentration on skin transport, *Acta*

- Pharm. Suec.*, 20, 433-442 (1983).
- 49) ChoY. -J., Choi H. -K., Enhancement of percutaneous absorption of ketoprofen: effect of vehicles and adhesive matrix, *Int. J. Pharm.*, 169, 95-104 (1998).
 - 50) Hilton J., Woollen B. H., Scott R. C., Auton T. R., Trebilcock K. L., Wilks M. F., Vehicle effects on *in vitro* percutaneous absorption through rat and human skin, *Pharm. Res.*, 11, 1396-1400 (1994).
 - 51) Bartek M. J., Labudde J. A., Maibach H. I., Skin permeability *in vivo*: Comparison in rat, rabbit, pig and man, *J. Invest. Dermatol.*, 58,114-123 (1972).
 - 52) Sato K., Sugibayashi K., Morimoto Y., Species differences in percutaneous absorption of nicorandil, *J. Pharm. Sic.*, 80, 104-107 (1991).
 - 53) Ghosh T. K., Habib M. J., Childe K., Alexander M., Transdermal delivery of metoprolol. I. Comparison between hairless mouse and human cadaver skin and effect of *n*-decylmethyl sulfoxide, *Int. J. Pharm.*, 88, 391-396 (1992).
 - 54) Draize, J. H., "Dermal toxicity", Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics, The association of Food & Drug Officials of the United States, Austin, Texas, 1959, pp. 46-59.
 - 55) Kobayashi I., Hosaka K., Maruo H., Saeki Y., Kamiyama M., Konno C., Gemba M., Skin toxicity of propranolol in guinea pigs, *J. Toxicol. Sci.*, 24, 103-112 (1999).
 - 56) Kobayashi I., Hosaka K., Ueno T., Maruo H., Kamiyama M., Konno C., Gemba M., Relationship between the amount of propranolol permeating through the stratum corneum of guinea pig skin after application of propranolol adhesive patches and skin irritation, *Biol. Pharm. Bull.*, 19, 839-844 (1996).
 - 57) Robinson M. K., Parsell K. W., Breneman D. L., Cruze C. A., Evaluation of the primary skin irritation and allergic contact sensitization

- potential of transdermal triprolidine, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 17, 103-199 (1991).
- 58) Tenjarla S. N., Holbrook J. H., Puranajoti P., Pegg C., Lowe K. D., Jackson T. E., Smith A., Evaluating the irritation potential of skin penetration enhancers in the hairless guinea pig, *J. Toxicol. -Cut. & Ocular Toxicol.*, 14, 299-307 (1995).
 - 59) Nakano Y., Saito K., Quantitative method for evaluating skin irritation caused by medical adhesives, *Nitto giho*, 28, 50-57 (1990).
 - 60) Montagna W., Yun J. S., The skin of the domestic pig, *J. Invest. Dermatol.*, 43, 11-21 (1964).
 - 61) Forbes P. D., Vascular supply of the skin and hair in swine, *Adv. Biol. Skin*, 9, 419-432 (1969).
 - 62) Motoyoshi K., Toyoshima Y., Sato M., Yoshimura M., Comparative studies on the irritancy of oils and synthetic perfumes to the skin of rabbit, guinea pig, rat, miniature swine and man, *Cosmetics & Toiletries* 94, 41-48 (1979).
 - 63) Borodkin S., Tucker F. E., Drug release from hydroxypropyl cellulose-polyvinyl acetate films, *J. Pharm. Sci.*, 63, 1359-1364 (1974).
 - 64) Musolf M. C., Pressure-sensitive adhesives: science and engineering, "Transdermal Controlled Systemic Medications," eds. by Chien Y. W., Marcel Dekker Inc., New York, 1987, pp. 93-112.
 - 65) Konzett H., Rössler R., Versuchsanordnung zu untersuchungen an der bronchialmuskulatur, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 195, 71-74 (1940).
 - 66) van de Sandt J. J. M., Rutten A. A. J. J. L. and van Ommen B., Species-specific cutaneous biotransformation of the pesticide propoxur during percutaneous absorption *in vitro*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 123, 144-150 (1993).

正誤表

「ホルモテロールテープ剤の製剤化研究」

ページ	行数	訂正箇所: 誤→正
11	14～15	「脂肪酸や IPM のような」 → 「IPM のような脂肪酸」
15	Table 3	「plolymer」 → 「polymer」
16	2	「MAA-BA」 → 「MMA-BA」
16	3	「MAA-BA」 → 「MMA-BA」
31	16	「暑さ」 → 「厚さ」
31	17	「暑さ」 → 「厚さ」
42	7	「単一溶媒では」 → 「単一溶媒系では」
42	12	「60/40 w/w」 → 「60/40 (w/w)」
43	2	「溶剤」 → 「溶解剤」
46	3	「MAA-BA」 → 「MMA-BA」